

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРОДУОДЕНИТЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ САТТ-ПОЛИМОРФИЗМА ФАКТОРА ТОРМОЖЕНИЯ МИГРАЦИИ МАКРОФАГОВ

Дудникова Э.В.¹, Чернова М.С.¹, Зазьян В.Г.¹, Беседина Е.А.¹, Бадьян А.С.¹,
Зазьян Э.В.¹, Азиева Н.У.¹

¹ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Россия (344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29), e-mail:marysia2005.87.11@mail.ru

Проведен анализ взаимосвязи генного полиморфизма фактора ингибции миграции макрофагов (МИФ) и морфологических изменений в слизистой оболочке желудка (СОЖ). Наиболее часто встречающимся был 6/6 САТТ-генотип. Увеличение числа повторений САТТ на 1 приводит к повышению риска заболевания хроническими воспалительными заболеваниями верхнего отдела желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (в среднем в 3,8 раза), формированию гастрита высокой степени активности (в 2,7 раза), развитию атрофических (в 2,3 раза), дистрофических (2,5 раза) изменений СОЖ. Повышение частоты повторов в генотипе МИФ сопряжено с развитием тяжелых морфологических изменений слизистой оболочки желудка и способствует повышению риска инфицирования *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Генотип 7/7 был ассоциирован с наличием умеренной степени активности гастрита, *H. pylori* «++», развитием атрофических, дистрофических, склеротических изменений СОЖ, и, напротив, при числе повторений 5/5 указанные проявления отсутствовали. Полученные в нашем исследовании закономерности свидетельствуют о высокой значимости МИФ в качестве биомаркера тяжелого течения и неблагоприятного исхода *H. pylori*-ассоциированного гастрита.

Ключевые слова: фактор ингибции миграции макрофагов (МИФ), хронический гастрит, *Helicobacter pylori*, дети.

MORPHOLOGICAL CHANGES FEATURES OF GASTRIC MUCOUS MEMBRANE IN CHRONIC GASTRODUODENITIS DEPENDING ON CATT-POLYMORPHISM MACROPHAGE MIGRATION INHIBITORY FACTOR

Dudnikova E.V.¹, Chernova M.S.¹, Zaz'yan V.G.¹, Besedina E.A.¹, Badian A.S.¹,
Zasian E.V.¹, Azieva N.U.¹

¹State Educational Institute of High Professional Training "Rostov state medical University" of Russian Federation Health Ministry, Rostov-on-don, Russia (Nakhichevansky St, 29 Rostov-on-don, 344022), e-mail: marysia2005.87.11@mail.ru

The relationship of gene polymorphism of macrophage migration inhibitory factor (MIF) and morphological changes in gastric mucous membrane are analyzed (GMM). 6/6 CATT-genotype was the most common. The increasing of CATT repetitions number to 1 results in risk increase of chronic inflammatory diseases of digestive tract upper part (to 3.8 times on average), the formation of high degree activity gastritis (to 2.7 times), atrophic changes development (to 2.3 times), dystrophic changes of gastric mucous membrane development (to 2.5 times). The increasing of repetition frequency in MIF genotype is associated with the development of more severe morphological changes of gastric mucous membrane and contributes to the increase *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) risk infection. 7/7 genotype was associated with a moderate activity degree of gastritis, *H. pylori* "++", the development of atrophic, dystrophic, sclerotic changes, and, on the contrary, in using 5/5 number of repetitions those ones were absent. These findings obtained during our observations indicate high significance of MIF as a biomarker of severe course and unfavorable outcome of *H. pylori*-associated gastritis.

Keywords: macrophage migration inhibitory factor (MIF), chronic gastritis, *helicobacter pylori*, children.

Заболевания верхних отделов пищеварительного тракта занимают ведущее место в гастроэнтерологической патологии детского возраста, среди которых хронический гастрит является самым распространенным и встречается более чем у половины населения [3]. Также в последнее десятилетие отмечен значительный рост патологии пищевода, квота которых в определенные возрастные периоды достигает 30-40% от всех болезней верхних отделов ЖКТ. Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (ЯБДК) стала диагностироваться несколько

реже и сегодня составляет 7-8% [5].

Из этиологических факторов ведущее значение придают бактерии *H. pylori*. Инфицирование данным микроорганизмом происходит у большинства больных уже в детском или подростковом возрасте[3]. Существуют доказательства, что *H. pylori* является ключевым фактором в этиологии различных желудочно-кишечных заболеваний: от бессимптомного хронического активного гастрита до язвенной болезни, аденокарциномы и MALT-лимфомы желудка [2; 8; 10].

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучении хеликобактерной инфекции, до сих пор остается неизвестным, почему у одних инфицированных пациентов развивается хронический гастрит, язвенная болезнь или рак желудка, а другие являются бессимптомными носителями данной бактерии[4].

С развитием молекулярной генетики стало очевидным, что предрасположенность к мультифакториальным заболеваниям, эффективность и безопасность их лечения в значительной степени определяются специфичным набором полиморфных вариантов генов. Полиморфизм представляет варианты аллелей, которые встречаются относительно часто среди популяции и в целом связаны с отклонениями в экспрессии или функции ферментов.

Одним из перспективных научных направлений является изучение генного полиморфизма миграции ингибирующего фактора макрофагов. МИФ был впервые описан в 60-е годы как один из первых цитокинов, продуцируемый активированными Т-лимфоцитами и способный тормозить миграцию макрофагов *in vitro* МИФ вырабатывается не только Т-активированными лимфоцитами, но и может экспрессироваться макрофагами, моноцитами, эпителиальными и дендритными клетками. МИФ содержится в цитоплазме клеток и быстро высвобождается при гипоксии, пролиферативной реакции или воздействии инфекционного фактора[1; 9].

С иммунологической точки зрения МИФ обладает плеiotропным действием – его можно охарактеризовать как один из основных провоспалительных цитокинов, обладающих отрицательным хемотаксическим эффектом, благодаря чему происходит мобилизация и аккумуляция фагоцитирующих клеток в очаге воспаления.

Уровень и активность данного цитокина зависит от полиморфизма гена, кодирующего МИФ. В связи с чем интересным является изучение САТТ-полиморфизма МИФ: данный тетра nukлеотидный повтор (САТТ) был обнаружен в нуклеотидной последовательности гена, кодирующего МИФ с числом повторений от 5 до 8 раз. При носительстве некоторых аллелей синтез, высвобождение и активность МИФ при определенных условиях значительно повышается.

Повышение уровня МИФ приводит к инфильтрации слизистой желудка воспалительными клетками, в том числе макрофагами, Т- и В- лимфоцитами, увеличению

экспрессии ФНО, IL-8, молекулы внутриклеточной адгезии 1 (ICAM 1), синтазы оксида азота, способствуя более тяжелым поражениям слизистой и язвообразованию. Показано, что МИФ – один из инициирующих факторов, «переключающих» хроническое воспаление на канцерогенез, вследствие нарушения баланса между клеточной пролиферацией и апоптозом [7].

Существует взаимосвязь указанного полиморфизма МИФ с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки: при наличии аллеля 7/7 язвенная болезнь развивается в 6 раз чаще, а также повышается риск возникновения атрофии слизистой оболочки желудка (отношение шансов 9,69 при 95% уровне значимости) [8].

HeX.X., YangJ., DingY.W.et. all (2006) в своем исследовании показали, что генный полиморфизм МИФ способствует различным вариантам течения *H.pylori*-инфекции и может стать биомаркером исхода *H.pylori*-ассоциированного гастрита [6].

Цель исследования. Выявить взаимосвязь между генным полиморфизмом МИФ, наличием *H. pylori* и характером морфологических изменений СОЖ у детей с хроническими воспалительными заболеваниями верхнего отдела желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Материалы и методы исследования. В проведенном исследовании приняли участие 96 детей. Основную клиническую группу составили 75 детей, имеющих хронические воспалительные заболевания верхнего отдела ЖКТ (хронический гастрит, гастродуоденит, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ)). Верификация диагноза проводилась с помощью эзофагогастродуоденоскопии с прицельной биопсией слизистой оболочки антрального отдела желудка, гистологического исследования биоптатов. Диагностика *H. pylori* проводилась с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР), уреазного теста и бактериоскопического метода в биоптатах СОЖ, а также с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови. Группа контроля – 21 ребенок (I и II группы здоровья).

Критерии включения в исследование: 1. Возраст 8-14 лет. 2. I – III стадия полового развития. 3. Самостоятельно и родители подписали информированное согласие на участие в исследовании. 4. Наличие хронического воспалительного заболевания верхнего отдела пищеварительного тракта (гастрит, гастродуоденит, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ)) в стадии клинико-эндоскопического обострения для детей общеклинической группы. 5. I и II А группа здоровья для группы контроля.

Критерии исключения: 1. Нежелание дать информированное согласие на участие в исследовании. 2. Врожденные заболевания органов ЖКТ. 3. Наличие у пациента клинически значимых сопутствующих заболеваний, требующих активного лечения. 4. Наличие противопоказаний для проведения процедур, входящих в комплекс обследования.

Кратность повторов в факторе ингибиции миграции нейтрофилов определяли на базе ФКУЗ «Ростовский противочумный институт» Роспотребнадзора при помощи ПЦР. Материал

для исследования – соскоб со слизистой оболочки щеки. Прямойпраймер имел структуру TGC TAT GTC ATG GCT TAT CTT CTT, обратный - CAG GCA TAC AAG AGA CAT TGA СТА А.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием критерия χ^2 , точного теста Фишера для таблиц сопряженности (ТТФ) и расчетом коэффициентов ранговой корреляции (Tau Кендалла – τ). Критический уровень статистической значимости при проверке нулевых гипотез $p = 0,01$. Для проверки статистической значимости различий числа повторений МИФ между группами использовался критерий Вилкоксона-Манна-Уитни (ВМУ).

Результаты исследования и их обсуждение

Распределение детей общеклинической группы по стадиям полового развития и полу было следующим: в I СПР находились 16 человек, из них 8 девочек и 8 мальчиков, во II – 30 (14 девочек и 16 мальчиков), в III – 29 человек (17 и 12 соответственно).

Этот возрастной период является критическим периодом формирования гастроэнтерологической патологии, который связан с перестройкой и некоторой дисфункцией регуляторных систем, в особенности эндокринной и вегетативной нервной системы, что делает целесообразным обследование детей именно этой возрастной группы. Общеклиническая и контрольная группы сопоставимы по возрасту, полу и стадиям полового развития.

На основании данных комплекса клиничко-лабораторных и инструментальных методов исследования, включая ЭГДС с прицельной биопсией антрального отдела желудка, ГЭРБ диагностирована у 92% обследуемых общеклинической группы, среди которых у большинства детей осложнена рефлюкс-эзофагитом I степени в 90%, II степени в 10% случаев.

Характерной особенностью было сочетанное поражения желудка и 12-перстной кишки. Катаральный гастродуоденит был выявлен у 87%, а эрозивный – у 13% детей. Язвенная болезнь луковицы 12-перстной кишки диагностирована у 2 детей, что отражает общую тенденцию снижения частоты язвенных поражений.

При анализе полиморфизма МИФ обнаружено, что наиболее часто встречающимся был 6/6 САТТ-генотип, выявленный у 49,3% обследуемых. Следует отметить, что 8/8 и 8/X аллели в нашем исследовании не встретились ни у одного пациента.

Согласно критерию Манна-Уитни, разница в числе повторений САТТ между общеклинической и контрольной группами является статистически высоко значимой ($p = 0,004$). Логистическая регрессия также подтверждает высокую значимость генотипа МИФ ($p = 0,002$, OR = 3,8 при 95% уровня значимости). Таким образом, можно говорить о повышении шансов заболевания хроническими воспалительными заболеваниями верхнего отдела ЖКТ при увеличении числа повторений САТТ (в среднем, в 3,8 раза при увеличении на одно повторение).

При оценке САТТ-полиморфизма МИФ в зависимости от нозологической формы в общеклинической группе было отмечено, что ГЭРБ II степени ассоциирована с более высоким числом повторений МИФ, отмечена средней силы значимая связь ($\tau = 0,28$, $p < 0,005$). Также выявлена средней силы положительная статистически значимая ($\tau = 0,40$, $p < 0,0001$) связь между САТТ-полиморфизмом и развитием эрозивного гастродуоденита; так, при увеличении значения МИФ чаще регистрировались эрозивные изменения в СОЖ (МУ: $p = 0,001$) и 12-перстной кишки (МУ: $p < 0,05$).

Нами установлено наличие статистически значимой прямой зависимости между генотипом МИФ и наличием *H. pylori* ($\tau = 0,38$, $p < 0,0001$). При рассмотрении данных САТТ-полиморфизма и морфологических изменений обнаружена средней силы прямая связь ($\tau = 0,39$, $p < 0,0001$). При увеличении числа повторений указанного полиморфизма возрастала степень обсемененности *H. pylori* и активность воспаления.

Проведенное нами исследование показывает наличие прямой связи между частотой повторов МИФ и наличием атрофических изменений в слизистой ($\tau = 0,23$, $p < 0,005$). А также выявлена прямая статистически значимая связь между числом повторений МИФ и наличием склеротических ($\tau = 0,30$, $p < 0,005$), а также дистрофических изменений СОЖ ($\tau = 0,28$, $p < 0,005$).

Генотип 7/7 САТТ был ассоциирован с наличием умеренной степени активности гастрита, *H. pylori* «++», развитием атрофических, дистрофических, склеротических изменений СОЖ, и, напротив, при числе повторений 5/5 указанные проявления отсутствовали.

Анализ значений отношений шансов (oddsratio) показывает, что увеличение числа повторений на 1 приводит к развитию высокой степени активности гастрита в 2,7 раза ($p = 0,039$, OR = 2,7 при 95% уровня значимости), атрофии желез в 2,3 раза ($p = 0,026$ при 95% уровня значимости), дистрофических изменений слизистой в 2,5 раза ($p = 0,02$ при 95% уровня значимости).

Атрофические, дистрофические, склеротические изменения СОЖ являются предпосылкой для развития дисрегенераторных изменений, метаплазии, дисплазии, резко увеличивающих риск развития рака желудка. В связи с чем полученные в нашем исследовании закономерности свидетельствуют о высокой значимости МИФ в качестве биомаркера тяжелого течения и неблагоприятного исхода *H. pylori*-ассоциированного гастрита, а также скрининг МИФ генотипа в начале заболевания может выявить пациентов, нуждающихся в более эффективном терапевтическом подходе.

Вывод: увеличение числа повторений САТТ сопряжено с развитием более тяжелых морфологических изменений слизистой оболочки желудка, а также способствует повышению риска инфицирования *Helicobacter pylori*.

Список литературы

1. Водопьянов А.С., Дудникова Э.В., Дергоусова М.С., Бадьян А.С. Роль фактора, ингибирующего миграцию макрофагов, в хронизации патологического процесса (обзор литературы)//Медицинский вестник Юга России. –2013. -№3.
2. Маев И.В., Голубев Н.Н. Принципы диагностики и рациональной фармакотерапии хронического гастрита // Русский медицинский журнал. Болезни органов пищеварения.– 2008.– № 28. – С. 1702–1706.
3. Маев И.В., Самсонов А.А., Андреев Н.Г., Кочетов С.А. Что мы знаем о хроническом гастрите //Фарматека. – 2011. – Т. 10. – С. 10-17.
4. Макаренко Е.В. Генетические факторы патогенности *Helicobacter pylori* //Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2004. – №. 3. – С. 78-83.
5. Цветкова Л.Н., Горячева О.А., Цветков П.М. и др. Гастроэнтерологическая патология у детей: патоморфоз заболеваний и совершенствование методов диагностики на современном этапе //Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей : материалы XVIII Конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ. – 2011. – С. 5-8.
6. He X.X., Yang J., Ding Y.W., Liu W., Shen Q.Y., Xia H.H. Increased epithelial and serum expression of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in gastric cancer: potential role of MIF in gastric carcinogenesis //Gut.- 2006.
7. Mitchell R.A., Liao H., Chesney J., Fingerle-Rowson G., Baugh J., David J. et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53: regulatory role in the innate immune response//Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2002.
8. Shiroeda H., Tahara T., Shibata T., Nakamura M. et al. Functional promoter polymorphisms of macrophage migration inhibitory factor in peptic ulcer diseases//Int. J.MolMed.– 2010.
9. Simons D., Grieb G., Hristov M., Pallua N., Weber C., Bernhagen J. et al. Hypoxia-induced endothelial secretion of macrophage migration inhibitory factor and role in endothelial progenitor cell recruitment //J. Cell. Mol. Med. - 2010.
10. Yamaoka Y. Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori* virulence factors//Nat. Rev.Gastroenterol.Hepatol. –2010. – №7 (11). – С.629–641.

Рецензенты:

Афонин А.А., д.м.н, профессор,заместитель директора по научной работе ФГБУ «Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии»Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону.

Чепурная М.М., д.м.н, профессор кафедры педиатрии с курсом неонатологии ГБОУ ВПО

«Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону.