



УДК 616.33-002-036.1:616.98:579.882:576.31:612-017-08-053.2

АБАТУРОВ О.Є.¹, ЗАВГОРОДНЯ Н.Ю.²

¹Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

²Комунальний заклад «Дніпропетровська міська дитяча клінічна лікарня № 1» Дніпропетровської обласної ради»

ІМУНОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ЛОКАЛЬНОГО ІМУННОГО ГОМЕОСТАЗУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПРИ ХРОНІЧНИХ НР-АСОЦІЙОВАНИХ ГАСТРИТАХ У ДІТЕЙ ПІСЛЯ ЕРАДИКАЦІЙНОЇ ТЕРАПІЇ

Резюме. У статті наведені результати стандартного морфологічного, імуногістохімічного дослідження біоптатів слизової оболонки шлунка та визначення бета-дефензину-2 у дітей, хворих на хронічний НР-асоційований гастрит, з урахуванням *SagA*-статусу, до та після антихелікобактерної терапії, модифікованої холекальциферолом. Продемонстровано підвищення ефективності комплексного лікування завдяки протизапальному, імуномодуючому, антипроліферативному ефектам холекальциферолу.

Ключові слова: хронічний гастрит, НР-інфекція, *SagA*-ген, імуноцити слизової оболонки, проліферативна активність, бета-дефензини, ерадикація, холекальциферол.

В останні роки лікування хронічних захворювань шлунка, асоційованих із *Helicobacter pylori* (НР), у дітей стає досить складним завданням у зв'язку зі швидким розвитком та неухильним зростанням антибіотикорезистентності НР, високим рівнем реінфікування [1–4]. Встановлено, що наявність у геномі НР *SagA*-гену пов'язана з більш агресивним перебігом захворювання та зменшенням ефективності ерадикації [5–9]. Це вимагає пошуку нових лікарських форм, режимів лікування та створення дійових альтернативних лікувальних схем [10–12]. Набуває багатьох прихильників концепція про доцільність використання у комплексному лікуванні НР-асоційованих хронічних гастритів (ХГ) препаратів, що змінюють імунну реактивність, підвищують колонізаційну резистентність слизової оболонки шлунка (СОШ) [13, 14]. Розуміння впливу активних метаболітів вітаміну D на функціонування неспецифічних механізмів локального мукозального захисту та специфічного імунітету надає можливість застосувати холекальциферол як ад'ювантну терапію НР-асоційованих гастритів у дітей [15–17].

Мета дослідження. Дослідити динаміку змін імуноморфологічних характеристик СОШ при хронічних НР-асоційованих гастритах у дітей з урахуванням *SagA*-статусу до та після проведення стандартної та модифікованої холекальциферолом ерадикаційної терапії.

Матеріали та методи дослідження

Під спостереженням перебували 79 дітей віком від 8 до 17 років, хворих на хронічний НР-асоційований гастрит, які лікувалися у гастро-

ентерологічному відділенні КЗ «МДКЛ № 1» м. Дніпропетровська протягом 2009–2011 рр. Усім пацієнтам була проведена фіброезофагогастроуденоскопія (ФЕГДС) (Pentax FG15W, Японія) з біопсією СОШ та гістологічною оцінкою біоптатів згідно з вимогами морфологічного розділу сучасної Сіднейсько-Х'юстонської системи, доповнень Міжнародної класифікації гастриту та візуально-аналогової шкали (ВАШ) з еталонами напівкількісної оцінки морфологічних змін [18, 19].

Визначення НР-асоційованості здійснювалось за результатами швидкого уреазного тесту (Хелпіл-тест, ООО «АМА», Росія, м. Санкт-Петербург) та як «подвійний контроль», в імуногістохімічному (ІГХ) дослідженні. Оцінку *SagA*-статусу проводили шляхом визначення сумарних антитіл до *SagA*-антигену НР у сироватці крові.

За характером антихелікобактерної терапії усі пацієнти були поділені на дві групи: 1-ша група — 39 пацієнтів, які отримували стандартну терапію за протоколом; 2-га група — 40 пацієнтів, які додатково до стандартної схеми отримували 1000 МО холекальциферолу щоденно протягом 2 тижнів.

Для контролю ефективності лікування та визначення подальшої персистенції НР-інфекції через 4–6 тижнів проводили контрольну ФЕГДС зі швидким уреазним тестом, морфологічним та ІГХ-дослідженням контрольних біоптатів.

© Абатуров О.Є., Завгородня Н.Ю., 2013

© «Гастроентерологія», 2013

Для морфологічного дослідження біоптати СОШ фіксували у 4% розчині нейтрального формаліну протягом доби і заливали в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 4–6 мкм наносили на адгезивні предметні скельця SuperFrost Plus, після депарафінізації та регідратації зрізів для ІГХ проводили температурне демаскування антигенів (зрізи були розміщені в цитратному буфері з рН 6.0 і підігрівалися в автоклаві при температурі +121 °С упродовж 8 хвилин) та пригнічували активність ендогенної пероксидази 3% розчином перекису водню протягом 20 хвилин. Далі проводили інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологих камерах при температурі 23–25 °С протягом 30 хвилин. Як первинні використовували моноклональні антитіла до CD3, CD20, CD68, S100, Ki-67 (LabVision) та поліклональні до HP (LabVision, *Helicobacter pylori* Rabbit Polyclonal Antibody). Титр антитіл добирали індивідуально для кожного маркера з використанням спеціального розчину Antibody Diluent (DakoCytomation). Візуалізацію проводили за системою UltraVision Quanto (LabVision), ідентифікацію реакцій — за допомогою хромогену DAB (LabVision) під контролем мікроскопу від 20 секунд до 3 хвилин. Для диференціювання структур тканин зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Майєра і вивчали світловою мікроскопією з використанням мікроскопа Leika DLM-E (США) з використанням об'єктивів $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$.

Згідно з критеріями модифікованої Сіднейсько-Х'юстонської системи, ступені лімфоцитозу, поліморфноядерної клітинної інфільтрації, атрофії залоз та кишкової метаплазії СОШ були класифіковані за ВАШ: 0 — нормальний, 1 — слабкий, 2 — помірний та 3 — значний. Про стан слизової оболонки щодо атрофії судили за відносною товщиною епітеліальної пластинки, кількістю, величиною та глибиною розташування шлункових залоз. Щільність заселення HP у СОШ оцінювали за напівкількісною шкалою, виділяючи негативний (0), слабкий (1), помірний (2) та високий (3) ступені [20, 21].

Представництво CD3⁺ Т-лімфоцитів, CD20⁺ В-лімфоцитів, CD68⁺-макрофагів та S100⁺ дендритних клітин у СОШ вивчали в 10 полях зору і обчислювали як середнє арифметичне абсолютних значень, відмічали загальну кількість імуніцитів, їх локалізацію, окремо відзначали відсоток інтраепітеліального розташування з розрахунком на 1000 ядер та аналізували ступінь забарвлення. Індекс проліферації (ІП) обчислювали, як відношення абсолютної кількості забарвлених ядер на 1000 епітеліальних клітин, на підставі вивчення інтрануклеарної експресії маркера Ki-67. Внутрішнім контролем були поодинокі інтрануклеарні реакції стромі або запального інфільтрату.

Визначення hBD2 в шлунковому вмісті проводили за методикою вестерн-блоту. Для виділення hBD2 зі зразків шлункового соку використовували метод зворотногофазової хроматографії із застосу-

ванням як рухливої фази ацетонітрилу (CH₃CN), підкисленого 0,05% трифтороцтовою кислотою до рН 2,5. Отримані фракції збирали, ліофільно висушували та розчиняли в мінімальному об'ємі деіонізованої води (50 мкл) із подальшим проведенням електрофорезу отриманих зразків у поліакриламідному гелі з підготуванням проб за Лемлі. Після електрофоретичного розділення та відмивання проводили електроперенос білків на нітроцелюлозну мембрану протягом 18 год при напруженості поля 60 В. Для блокування сайтів неспецифічного зв'язування антитіл нітроцелюлозну мембрану інкубували з розчином 1 % ембріональної сироватки протягом 1 години, після чого відмивали PBS-Т-буфером та інкубували з моноклональними антитілами (Інститут онкології АМН, м. Київ, Україна), специфічними до бета-дефензину-2 людини протягом 2,5 год [22]. Для візуалізації за допомогою реакції фотолюмінесценції в системі ICL додавали антитіла (кон'югат), мічені пероксидазою хрому, та інкубували протягом 1 год. Для проявлення нітроцелюлози використовували концентрат ECL. Проявляли блот, використовуючи рентгенівську плівку та стандартні реактиви для проявлення рентгенівських плівок (ОНІКО, м. Київ, Україна).

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програм SPSS Statistica 17.0, Statgraf, Matstat. Для встановлення статистично значущих відмінностей між показниками в групах за різних умов лікування використовували точний тест Фішера, між експресією маркерів та морфологічними характеристиками — непараметричний U-критерій Манна — Уїтні. Виявлення й оцінку характеру зв'язку між показниками проводили за допомогою рангової кореляції з розрахунком непараметричного коефіцієнта кореляції Спірмена (r). Значущим вважався зв'язок при $p < 0,05$ [23].

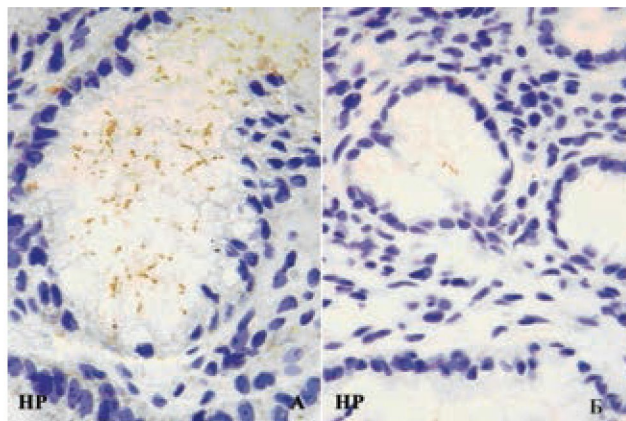
Результати та обговорення

При контрольному обстеженні дітей 1-ї групи, які отримували терапію за протоколом, за даними уреазного тесту у 26 пацієнтів (66,7 %) встановлено ефективну ерадикацію HP, у 13 (33,3 %) лікування визначено невдалим. У 2-й групі, пацієнти якої додатково отримували холекальциферол, відсоток вдалої ерадикації виявився значно вищим — 82,5 % ($p = 0,037$). Встановлено прямий помірний кореляційний зв'язок між підвищенням ефективності лікування (збільшенням кількості негативних уреазних тестів) із модифікацією схеми лікування за рахунок включення холекальциферолу ($r = +0,328$). Слід відзначити, що більшість дітей із персистенцією HP після лікування страждали від CagA-позитивного HP-асоційованого ХГ. У групі, пацієнти якої лікувалися за протоколом, частка CagA-позитивних пацієнтів із невдалою ерадикацією становила 28,2 % (11 спостережень із 39), тоді як у 2-й групі цей показник був лише 15,0 % (6 спостережень із 40) (табл. 1).

Дослідження контрольних біоптатів СОШ пацієнтів 1-ї групи продемонструвало значне зменшення щільності контамінації СОШ НР після лікування ($p = 0,015$) (табл. 2). У 8 пацієнтів із персистенцією НР щільність заселення СОШ після лікування також зменшилась порівняно з показниками до лікування (рис. 1А), зберігаючись переважно на слабкому рівні (рис. 1В), але у 5 пацієнтів, хворих на *CagA*-позитивний НР-асоційований ХГ, стійких до проведеної терапії, показник інтенсивності колонізації лишився майже незмінним, сягаючи середнього рівня.

Стандартне морфологічне дослідження біоптатів СОШ пацієнтів 1-ї групи визначило зменшення активності запалення порівняно з початковими показниками (табл. 2). Серед 26 пацієнтів із вдалою ерадикацією НР у 18 спостерігалися ознаки неактивного поверхневого гастриту, у 8 — ХГ з мінімальною активністю (на рівні 1 бала за ВАШ). Такі показники, як атрофія шлункових залоз, кишкова метаплазія, за нашими даними, не зазнали суттєвих змін після лікування ($p = 0,081$, $p = 0,063$ відповідно). Ймовірно, виникнення цих морфологічних змін пов'язане не лише з інфікуванням НР, але й з іншими складними механізмами альтерації СОШ, що вимагають додаткового дослідження.

Склад лімфоплазмозитарного інфільтрату після лікування в кожному окремому спосте-



А. Реакція з маркером НР до лікування.
Б. Реакція з маркером НР після неефективної ерадикації.

ІГХ-метод, додаткове забарвлення гематоксилином Майєра ($\times 1000$).

Рисунок 1 — Динаміка змін щільності заселення НР СОШ до та після невдалої ерадикації

реженні був досить різномірним, що знайшло відображення в різній кількості балів за ВАШ (табл. 2), але загальна кількість мононуклеарів після лікування порівняно з даними біопсій до лікування значно зменшилась ($p < 0,001$). Осо-

Таблиця 1 — Характеристика ефективності лікування пацієнтів досліджуваних груп залежно від *CagA*-статусу

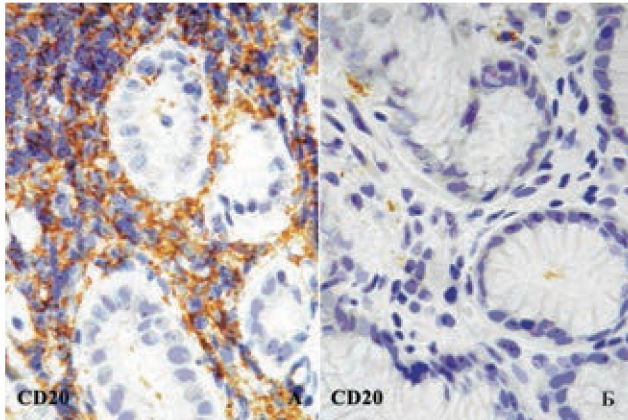
Досліджувана група	Кількість спостережень, $n = 79$		Результати контрольного уреазного тесту				P
	<i>CagA</i> -	<i>CagA</i> +	Негативний		Сумнівний або позитивний		
			<i>CagA</i> -	<i>CagA</i> +	<i>CagA</i> -	<i>CagA</i> +	
1-ша (лікування за протоколом)	17	22	15	11	2	11	0,037
	39		26 (66,7 %)		13 (33,3 %)		
2-га (лікування з хо-лекальциферолом)	20	20	19	14	1	6	
	40		33 (82,5 %)		7 (17,5 %)		

Примітка. P — рівень статистичної значущості за точним критерієм Фішера.

Таблиця 2 — Імуноморфологічна характеристика біоптатів СОШ після проведення ерадикаційної терапії за стандартною схемою лікування (1-ша група)

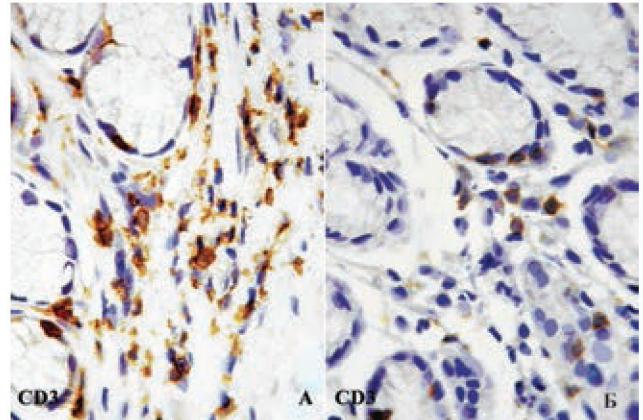
Імуноморфологічний показник	1-ша група (схема лікування за протоколом), $n = 39$								P
	До лікування				Після лікування				
	0	1	2	3	0	1	2	3	
Щільність заселення НР	12	19	8		26	8	5		0,015
Поліморфоядерна клітинна інфільтрація	12	15	12		18	15	6		< 0,000
Атрофія залоз	10	16	7	6	15	19	5		0,081
Кишкова метаплазія	12	17	6	4	14	15	10		0,063
CD3	11	12	15	1	12	18	9		< 0,001
CD20	3	16	14	6	16	18	5		< 0,001
CD68	5	25	6	3	11	18	10		< 0,001
S100	13	15	11		11	9	19		0,079

Примітка. P — рівень статистичної значущості за критерієм Манна — Уїтні.



А. Цитоплазматична реакція з маркером CD20 у щільному скупченні В-лімфоцитів до лікування. **Б.** Цитоплазматична реакція з маркером CD20 поодиноких інтраепітеліальних В-лімфоцитів після лікування. ІГХ-метод, додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра ($\times 1000$).

Рисунок 2 — Динаміка змін інтенсивності інфільтрації СОШ CD20⁺ В-лімфоцитами до та після лікування



А. Переважно цитоплазматична реакція з маркером CD3 стромальних Т-лімфоцитів до лікування. **Б.** Мембранна реакція з маркером CD3 міжепітеліальних Т-лімфоцитів у межах норми після лікування. ІГХ-метод, додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра ($\times 1000$).

Рисунок 3 — Динаміка змін інтенсивності інфільтрації СОШ Т-лімфоцитами до та після лікування

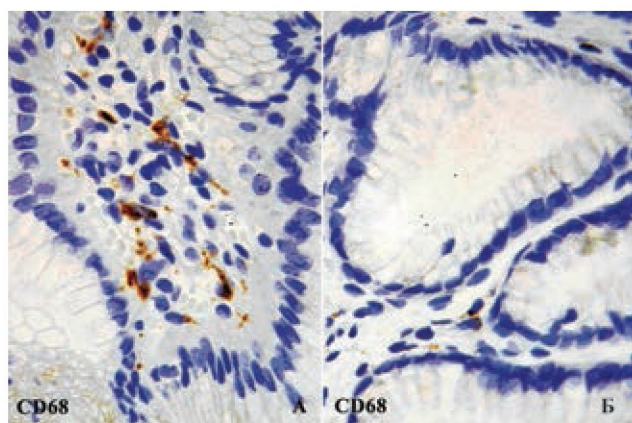
бливо звертає на себе увагу зменшення кількості В-лімфоцитів, які до лікування часто утворювали фолікули (2–3-й ступінь за ВАШ), а після лікування вже розташовувались у вигляді поодиноких інтраепітеліальних CD20-позитивних клітин у межах норми або на рівні 1 за ВАШ (рис. 2). Цікаво, що у 5 з 13 випадків із персистенцією НР продовжувала спостерігатися помірна інфільтрація CD20-клітинами, до того ж усі ці пацієнти виявилися СаgА-позитивними).

Морфологічне дослідження контрольних біоптатів СОШ пацієнтів 2-ї групи, які лікувалися за схемою з холекальциферолом, продемонструвало більш значне зниження показників щільності колонізації НР ($p_1 < 0,001$), кількості поліморфноядерних лейкоцитів ($p_1 < 0,001$) після лікування (табл. 3). Інші морфологічні характеристики — кишкова метаплазія, атрофія залоз, як і у 1-й групі, значущих змін не зазнали ($p_1 = 0,057$, $p_1 = 0,142$ відповідно). Ступінь атрофії та кишкової метаплазії СОШ був значно вищий у СаgА-позитивних пацієнтів: у 4 із 6 хворих на СаgА-позитивний НР-асоційований ХГ із персистенцією НР після ерадикації цей показник був на 2-му рівні за ВАШ.

ІГХ-дослідження біоптатів СОШ пацієнтів 2-ї групи визначило зменшення CD3⁺ Т-лімфоцитарної ($p_1 < 0,001$) і CD20⁺ В-лімфоцитарної ($p_1 < 0,001$) інфільтрації, а також зниження кількості CD68⁺-макрофагів ($p_1 < 0,001$) порівняно з аналогічними показниками до лікування (рис. 3, 4) та показниками 1-ї групи після лікування ($p_2 = 0,012$, $p_2 = 0,030$, $p_2 = 0,034$ відповідно). Кількість дендритних клітин не зазнала значущих змін у динаміці спостереження.

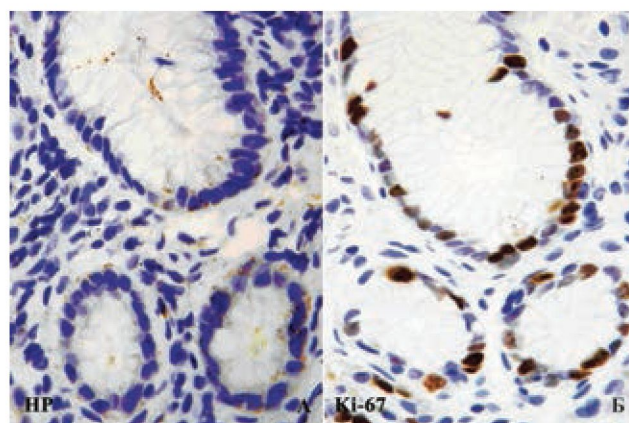
Дослідження показників проліферативної активності на підставі визначення імуногістохімічного маркера Ki-67 (із розрахунком ІП) у біоптатах СОШ хворих на хронічний НР-асоційований гастрит до та після лікування за двома різними схемами продемонструвало наявність статистично значущої різниці між групами за точним критерієм Фішера з перевагою схеми лікування, модифікованої холекальциферолом ($p = 0,033$) (табл. 4). Також був виявлений помірний зворотний кореляційний зв'язок між зниженням проліферативної активності епітеліоцитів СОШ та підвищенням ефективності лікування за рахунок модифікації терапії холекальциферолом ($r = -0,415$). ІП епітелію шлункових залоз у випадках персистенції НР після лікування також був значно вищим, ніж у середньому після ерадикації (рис. 5).

При визначенні hBD2 у шлунковому вмісті дітей досліджуваних груп з'ясувалось, що СаgА-позитивні пацієнти характеризуються значно вищими рівнями hBD2 порівняно з СаgА-негативними ($p > 0,05$). Так, медіана концентрації hBD2 до лікування у дітей, хворих на СаgА-позитивний ХГ, становила ($0,394 \pm 0,089$) мкг/мл, тоді як у СаgА-негативних хворих — ($0,249 \pm 0,064$) мкг/мл. У пацієнтів 2-ї групи, які отримували терапію з холекальциферолом, встановлено наявність прямого позитивного кореляційного зв'язку рівня hBD2 зі ступенем інфільтрації СОШ CD68⁺-макрофагами ($r = 0,474$), S100⁺ дендритними клітинами ($r = 0,333$), CD20⁺ В-лімфоцитами ($r = 0,290$) до лікування, а також зворотного кореляційного зв'язку рівня hBD2 з успішністю ерадикації ($r = -0,295$). hBD2 не визначався у шлунковому вмісті після лікування в жодному випадку вдалої ерадикації.



А. Цитоплазматична реакція з маркером CD68 макрофагів до лікування.
Б. Цитоплазматична реакція з маркером CD68 поодиноких макрофагів у межах норми після лікування.
 ІГХ-метод, додаткове забарвлення гематоксилином Майєра ($\times 1000$).

Рисунок 4 — Динаміка змін інтенсивності інфільтрації СОШ CD68⁺ макрофагами до та після лікування



А. Реакція з маркером НР, що доводить персистенцію НР після лікування.
Б. Інтрануклеарна реакція з маркером Ki-67 із високим ІП епітелію шлункових залоз у випадку персистенції НР.
 ІГХ-метод, додаткове забарвлення гематоксилином Майєра ($\times 1000$).

Рисунок 5

Таблиця 3 — Імуноморфологічна характеристика біопатів СОШ після проведення ерадикаційної терапії з холекальциферолом (2-га група)

Імуноморфологічний показник	2-га група (схема лікування з холекальциферолом), n = 40								P
	До лікування				Після лікування				
	0	1	2	3	0	1	2	3	
Щільність заселення НР СОШ	10	20	7	3	33	7			$p_1 < 0,000, p_2 = 0,043$
Поліморфноядерна клітинна інфільтрація	9	8	22	3	36	3	1		$p_1 < 0,000, p_2 = 0,011$
Атрофія залоз	10	20	5	5	14	21	5		$p_1 = 0,142, p_2 = 0,713$
Кишкова метаплазія	6	9	22	3	10	27	3		$p_1 = 0,057, p_2 = 0,052$
CD3	5	14	19	2	26	14			$p_1 < 0,000, p_2 = 0,012$
CD20		7	25	10	31	6	3		$p_1 < 0,000, p_2 = 0,030$
CD68	3	17	22		19	21			$p_1 < 0,000, p_2 = 0,034$
S100	12	10	20		11	18	11		$p_1 = 0,149, p_2 = 0,460$

Примітки: p — рівень статистичної значущості за критерієм Манна — Уїтні; p_1 — порівняно з пацієнтами 2-ї групи до лікування; p_2 — порівняно з пацієнтами 1-ї групи після лікування.

Таблиця 4 — Характеристика динаміки проліферативної активності СОШ за ІП

Досліджувана група	Кількість випадків, n = 79	Середні значення експресії маркера проліферації Ki-67 (індекс проліферації)		P
		До лікування	Після лікування	
1-ша	39 (49,4 %)	27,0 \pm 4,2	12,0 \pm 1,2	0,033
2-га	40 (50,6 %)	28,0 \pm 4,5	5,0 \pm 0,9	

Примітка. P — рівень статистичної значущості за точним критерієм Фішера.

Таким чином, схема ерадикації з застосуванням холекальциферолу виявила вірогідно більшу ефективність, ніж звичайна схема, що знайшло підтвердження в збільшенні відсотка вдалої ерадикації ($p = 0,042$) та щільності заселення СОШ НР ($p < 0,001$). Позитивні ефекти модифікованого лікування пов'язані зі зменшенням кількості поліморфноядерних лейкоцитів ($p_2 = 0,011$), $CD3^+$ Т-лімфоцитів ($p_2 = 0,012$), $CD20^+$ -В-лімфоцитів ($p_2 = 0,030$), $CD68^+$ -макрофагів ($p_2 = 0,034$), а також зі зменшенням ІП ($p = 0,033$), що є свідченням потужного протизапального, імуномодуючого та антипроліферативного впливу холекальциферолу. Рівень hBD2 у шлунковому вмісті корелює зі ступенем мононуклеарної інфільтрації СОШ і може бути маркером персистенції запалення у випадках невдалої ерадикації НР.

Висновки

1. Включення холекальциферолу до схеми лікування хронічних НР-асоційованих гастритів у дітей дозволяє підвищити ефективність терапії за рахунок збільшення відсотка ефективної ерадикації.

2. Основою позитивних ефектів модифікованого холекальциферолом лікування є посилення безпосереднього антибактеріального, протизапального та антипроліферативного впливу за рахунок значущого зменшення щільності заселення СОШ НР, кількості поліморфноядерних лейкоцитів, $CD3^+$ Т-лімфоцитів, $CD20^+$ В-лімфоцитів, $CD68^+$ -макрофагів та ІП.

3. Визначення hBD2 у шлунковому вмісті після лікування може бути маркером неефективності ерадикації та персистенції запалення.

Список літератури

1. Волосовець О.П. Вплив проведення антихелікобактерної терапії Нр-інфікованим батькам на рівень реінфекції Нр в дітей із досягнутою ерадикацією [Текст] / О.П. Волосовець, С.Д. Салтанова // *Здоров'я ребенка*. — 2012. — № 2(37). — С. 25-28.
2. Evidence-based guidelines from ESPGHAN and NASPGHAN for *Helicobacter pylori* infection in children / S. Koletzki, N.L. Jones, K.J. Goodman [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* — 2011. — Vol. 53, № 2. — P. 230-43.
3. Moya D.A. *Helicobacter pylori* persistence in children: distinguishing inadequate treatment, resistant organisms, and reinfection [Text] / D.A. Moya, K.D. Crissinger // *Curr. Gastroenterol. Rep.* — 2012. — Vol. 14, № 3. — P. 236-242.
4. Sabbi T. Short review about *Helicobacter pylori* infection in pediatric age: epidemiological and clinical findings, diagnosis, therapy and role of probiotics [Text] / T. Sabbi // *Pediatr. Med. Chir.* — 2011. — Vol. 33, № 5-6. — P. 221-226.
5. Baryshnikova N.V. *Helicobacter pylori*-associated gastroenterological diseases: genetic features and probiotic treatment [Text] / N.V. Baryshnikova // *Benef. Microbes.* — 2012. — Vol. 3, № 2. — P. 157-161.
6. Correlation of anti-*Helicobacter pylori* cagA IgG antibodies with resistance to first line treatment, bleeding gastroduodenal ulcers and gastric cancer [Text] / M. Ilie, L. Dascăl, C. Chifiriuc [et al.] // *Roum. Arch. Microbiol. Immunol.* — 2011. — Vol. 70, № 3. — P. 101-4.

7. In situ expression of *CagA* and risk of gastroduodenal disease in *Helicobacter pylori* infected children [Text] / J.R. Rick, M. Goldman, C. Semino-Mora [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* — 2010. — Vol. 50, № 2. — P. 167-172.

8. Pediatric *Helicobacter pylori* isolates display distinct gene coding capacities and virulence gene marker profiles [Text] / S. Talarico, B.D. Gold, J. Fero [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 2009. — Vol. 47, № 6. — P. 1680-1688.

9. Ulcerogenic *Helicobacter pylori* strains isolated from children: a contribution to get insight into the virulence of the bacteria [Text] / I. Vitoriano, K.D. Saraiva-Pava, A. Rocha-Gonçalves [et al.] // *PLoS One.* — 2011. — Vol. 10, № 6. — P. 265.

10. Gasparetto M. *Helicobacter pylori* eradication therapy: current availabilities [Text] / M. Gasparetto, M. Pescarin, G. Guariso // *ISRN Gastroenterol.* — 2012. — P. 186.

11. Horvath A. Meta-analysis: sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication in children [Text] / A. Horvath, P. Dziechciarz, H. Szajewska // *Aliment. Pharmacol. Ther.* — 2012. — Vol. 36, № 6. — P. 534-41.

12. Sýkora J. *Helicobacter pylori* in pediatrics [Text] // J. Sýkora, M. Rowland // *Helicobacter.* — 2011. — Vol. 16, № 1. — P. 59-64.

13. Probiotics and *Helicobacter pylori* infection in children [Text] / E. Lionetti [et al.] // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* — 2012. — Vol. 26, № 1. — P. 69-76.

14. Evaluation of *Helicobacter Pylori* eradication in pediatric patients by triple therapy plus lactoferrin and probiotics compared to triple therapy alone [Text] / S. Tolone, V. Pellino, G. Vitaliti [et al.] // *Ital. J. Pediatr.* — 2012. — Vol. 38. — P. 63.

15. Абатуров А.Е. Витамин-D-зависимая продукция антимикробных пептидов [Текст] / А.Е. Абатуров, Н.Ю. Загородняя // *Здоровье ребенка*. — 2012. — № 1(36). — С. 105-112.

16. Bikle D.D. Vitamin D regulation of immune function [Text] / D.D. Bikle // *Vitam. Horm.* — 2011. — Vol. 86. — P. 1-21.

17. Hewison M. Vitamin D and innate and adaptive immunity [Text] / M. Hewison // *Vitam. Horm.* — 2011. — Vol. 86. — P. 23-62.

18. Аруин Л.И. Новая международная морфологическая классификация гастрита (модификация Сиднейской системы) [Текст] / Л.И. Аруин // *Арх. патологии*. — 1997. — № 3. — С. 3-7.

19. Тертичний О.С. Морфологическая диагностика хронических гастродуоденитов у детей [Текст] / О.С. Тертичний, В.В. Гаргин, Н.С. Маренич // *Перинатология и педиатрия*. — 2010. — № 2(42). — С. 64-66.

20. Evaluation of gastric histology in children and adolescents with *Helicobacter pylori* gastritis using the Update Sydney System / M. Langner, R.S. Machado, F.R. Patricio [et al.] // *Arq. Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 46, № 4. — P. 328-32.

21. Gastric mucosal atrophy: interobserver consistency using new criteria for classification and grading [Text] / M. Rugge, P. Correa, M.F. Dixon [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* — 2002. — № 16. — P. 1249-59.

22. *Expression of beta-defensin-2 in human gastric tumors: a pilot study [Text] / N. Markeeva, I. Lisovski, V. Lyzogubov [et al.] // Exp. Oncol. — 2005. — Vol. 27, № 2. — P. 130-5.*

23. Юнкеров В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований [Текст] /

В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев. — СПб.: Издательство Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, 2002. — 267 с.

Отримано 22.03.13 □

Абатуров А.Е.¹, Завгородняя Н.Ю.²

¹Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины»

²Коммунальное учреждение «Днепропетровская городская детская клиническая больница № 1» Днепропетровского областного совета»

Abaturov O.Ye.¹, Zavgorodnya N.Yu.²

¹State Institution «Dnipropetrovsk State Medical Academy of Ministry of Public Health of Ukraine»

²Municipal Institution «Dnipropetrovsk City Pediatric Clinical Hospital № 1 of Dnipropetrovsk Regional Council», Dnipropetrovsk, Ukraine

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ЛОКАЛЬНОГО ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ НР-АССОЦИИРОВАННЫХ ГАСТРИТАХ У ДЕТЕЙ ПОСЛЕ ЭРАДИКАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ

Резюме. В статье приведены результаты стандартного морфологического, иммуногистохимического исследования биоптатов слизистой оболочки желудка и определения бета-дефензина-2 у детей, страдающих хроническим НР-ассоциированным гастритом, с учетом CagA-статуса, до и после проведения антихеликобактерной терапии, модифицированной холекальциферолом. Продемонстрировано повышение эффективности комплексного лечения за счет противовоспалительного, иммуномодулирующего, антипролиферативного эффектов холекальциферола.

Ключевые слова: хронический гастрит, НР-инфекция, CagA-ген, иммунциты слизистой оболочки, пролиферативная активность, бета-дефензины, эрадикация, холекальциферол.

IMMUNOMORPHOLOGICAL FEATURES OF CHANGES OF THE LOCAL GASTRIC MUCOSAL HOMEOSTASIS IN CHRONIC HP-ASSOCIATED GASTRITIS IN CHILDREN AFTER ERADICATION THERAPY

Summary. The article deals with the results of standard morphological, immunohistochemical study of gastric mucosa biopsy specimens and beta-defensin-2 production in children with chronic HP-associated gastritis taking into account the CagA-status before and after HP eradication, modified by cholecalciferol. The increase of the treatment efficiency due to anti-inflammatory, immunomodulatory and antiproliferative effects of cholecalciferol have been shown.

Key words: chronic gastritis, HP-infection, CagA-gene, mucosal immune cells, proliferative activity, beta-defensins, eradication, cholecalciferol.