На правах рукописи

Казакова

Мария Анатольевна

ВЛИЯНИЕ МИКРОБНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ ВЕРХНЕГО ОТДЕЛА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА НА ФОРМЫ ЕГО ПОРАЖЕНИЯ У ДЕТЕЙ

14.01.08 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Казань – 2019

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

Научный руководитель: **Файзуллина Резеда Абдулахатовна,** доктор медицинских наук, профессор

Научный консультант: Поздеев Оскар Кимович, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:
Бельмер Сергей Викторович, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры госпитальной педиатрии №2 педиатрического факультета
Бокова Татьяна Алексеевна, доктор медицинских наук, доцент, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского», профессор кафедры педиатрии факультета усовершенствования врачей

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «26» апреля 2019г. в 9^{00} на заседании диссертационного совета Д 208.034.03 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49Б) и на сайте (http://www.kazangmu.ru) ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России

Автореферат разослан « » 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного
совета,
доктор медицинских наук, доцент Хасанова Гульшат Рашатовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Заболевания органов верхнего отдела пищеварительного тракта имеют полигенный тип наследования и относятся к мультифакториальным (Regino W.O. 2010; Запруднов А.М., Харитонова Л.А., Григорьев К.И., 2012). Неоспорима роль питания, отягощенной наследственности, дисгармонии вегетативной нервной системы и психоэмоциональных особенностей личности в возникновении заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). В последние годы наибольшее количество исследований касается роли *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) при заболеваниях желудка и двенадцатиперстной кишки (Marshall B.J., Warren J.R., 1984; Нижевич А.А. и соавт., 2014; Бельмер С.В., 2016; Бокова Т.А., 2016; Корниенко Е.А., Паролова Н.И., 2017). В некоторых работах подчеркивается роль герпесвирусов и вируса Эбштейна-Барр (Мельникова И.Ю., 2010; Левит Р.М., 2011; Канькова Н.Ю., 2014; Волынец Г.В. и соавт., 2018), грибов рода *Candida* (Леонтьева Н.И., 2010; Маланичева Т.Г. и соавт., 2012; Циммерман Я.С., 2013; Ашуров Г.Г., 2017).

Однако поражение органов гастродуоденальной области редко протекает как монозаболевание. Анатомо-физиологическая близость, общность иннервации и гуморальной регуляции создают предпосылки вовлечения органов гепатобилиарной области и поджелудочной железы (Лукина Г.И., 2011). При этом этиопатогенетические основы сочетанных заболеваний желудка, двенадцатиперстной кишки и желчного пузыря у детей остаются предметом дискуссии.

Степень разработанности темы. Ранее проведенные исследования свидетельствуют о весомой роли бактериальной инфекции (*E. coli, Klebsiella spp., Serratia spp., Enterobacter spp., Enterococcus spp., Streptococcus spp.* и др.) в возникновении и развитии желчнокаменной болезни, острого холецистита и холецистопанкреатита у хирургических больных (Sung J.Y., 1992; Митряков П.С., 2016). Относительно способности хеликобактеров вызывать поражения гепатобилиарной системы имеется небольшой объем литературных данных (Валеева Ю.В., 2011; Исаева Г.Ш., 2013; Поздеев О.К., 2015; Bohr U.R., 2007; Dar M. Y., 2016; Cen L, 2017). Не опровергается и значение *H. pylori* в поддержании воспалительных процессов в желчном пузыре, в том числе и развитии желчнокаменной болезни у взрослых (Cen L, 2017; Fatemi S.M., 2018). Выявление взаимосвязи между обнаружением ДНК хеликобактеров и повышением клеточной пролиферации желчного эпителия указывает на возможное участие этих бактерий в развитии заболеваний билиарного тракта (Fukuda K., 2002; de Martel C., Franceschi S., 2009; Segura-López F.K., 2015).

Микробиота ЖКТ при различных патологических состояниях нередко сопровождается активацией роста, увеличением в просвете кишечника продуктов их жизнедеятельности с развитием местного воспаления, выработкой нейромедиаторов и дальнейшим выбросом провоспалительных цитокинов, замыкая, таким образом, порочный круг.

Повышение уровня провоспалительных цитокинов посредством секреции кортикотропин-рилизинг фактора в гипоталамусе стимулирует выработку адренокортикотропного гормона в гипофизе, что индуцирует продукцию кортизола — главного гормона стресса, регулирующего деятельность многих органов человека, включая мозг (Boccі V., 1992; Goodacre R., 2007; Huerta-Franco M.R. 2013; Dinan T.G., Cryan J.F., 2017; Foster J.A., Rinaman L., Cryan J.F., 2017; Jameson K.G., Hsiao E.Y., 2018).

Доказана обоюдная связь между микробиотой кишечника и мозгом, которая осуществляется при участии вегетативной нервной системы (ВНС), энтеральной нервной системы и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси (Усенко Д.В., Николаева С.В., 2011; Аверин О.И., Даниленко В.Н., 2017; Osadchiy V., Martin C.R., Mayer E.A., 2018). ВНС посредством симпатических и парасимпатических ветвей передает сигналы из просвета ЖКТ в центральную нервную систему (ЦНС). Эти сигналы могут влиять на эмоциональность, настроение, когнитивные функции и поведение (Li Y. et al., 2018; Jameson K.G., Hsiao E.Y., 2018; Verdi S. et al., 2018).

При анализе данных литературы, посвященной изучению психовегетативного статуса детей с заболеваниями ЖКТ, обращает на себя внимание тот факт, что большинство исследований ограничивается оценкой психоэмоционального (Shapiro M.A., Nguyen M.L., 2010; Bufler P., Gross M., Uhlig H.H., 2011) либо вегетативного статуса (Иванова И.И., 2010; Буторина Н.В., 2013; Колосова Т.А., 2014) при функциональной или органической патологии ЖКТ с указанием ведущей роли стресса, отношений в семье и повышенной учебной нагрузки. Значение других факторов, в том числе микробиоты, в формировании нарушений психоэмоциональной сферы у детей с заболеваниями органов верхнего отдела пищеварительного тракта (ВОПТ) в литературе не освещено.

В связи с этим изучение роли микробного фактора в формировании заболеваний ВОПТ (изолированного хронического гастродуоденита (ХГД) и при сочетанных формах поражения желчного пузыря) и многообразии клинических проявлений, в том числе изменений вегетативной нервной системы и психоэмоциональной сферы, представляется актуальным и значимым.

Цель работы: совершенствование диагностики сочетанной хронической гастродуоденальной и билиарной патологии у детей на основании оценки психовегетативного статуса, микробной колонизации двенадцатиперстной кишки и желчи, в т.ч. *H.pylori.*

Задачи исследования

1. Определить частоту и уровень микробной колонизации, в том числе *H. pylori,* слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и желчи у детей с изолированным хроническим гастродуоденитом и при сочетанных формах поражения желчного пузыря.
2. Установить генетические особенности *H. pylori*, определяющие синтез основных факторов патогенности, у детей с изолированным

хроническим гастродуоденитом и при сочетании с патологией желчного пузыря.

3. Оценить значимость полиморфизма гена интерлейкина *IL6 – 174 G/C* в формировании сочетанной патологии гастродуоденальной области и желчного пузыря у детей.

4. Изучить клинические особенности, в том числе изменения психоэмоционального статуса и вегетативной нервной системы, результаты лабораторно-инструментальных исследований у детей с изолированным хроническим гастродуоденитом и при сочетанных формах поражения желчного пузыря в зависимости от микробной колонизации двенадцатиперстной кишки и желчи.

5. Разработать алгоритм прогнозирования формирования сочетанной гастродуоденальной и билиарной патологии у детей в зависимости от колонизации *H. pylori* слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и желчи.

Научная новизна

1. Изучена микробная колонизация, в том числе *H. pylori,* слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и порций желчи у детей, страдающих сочетанными хроническими заболеваниями желудка, двенадцатиперстной кишки и желчного пузыря у детей.

2. Впервые установлена распространенность мутантных аллелей гена *IL6 – 174 G/C* у детей с сочетанной патологией гастродуоденальной области и желчного пузыря.

3. Разработан и обоснован алгоритм прогнозирования формирования сочетанной патологии гастродуоденальной области и желчного пузыря у детей в зависимости от колонизации *H. pylori* слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и желчи.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные данные свидетельствуют о существенной роли микробной колонизации слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и желчи, в том числе *H. pylori,* в формировании у детей с хроническим гастродуоденитом сочетанной патологии желчного пузыря. Показан различный уровень обсемененности и видовой спектр микроорганизмов в зависимости от выраженности патологии. У детей с сочетанной гастродуоденальной патологией и заболеванием желчного пузыря установлена диссоциация микробиоты – на фоне повышенного уровня аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов отсутствовали облигатные бактерии вида *Lactobacterium.*

Выявленные особенности микробного пейзажа влияли как на состояние и функцию желчного пузыря, так и на клинические проявления заболевания. Исследование вегетативной нервной системы позволило определить значимость ее изменений в развитии моторно-эвакуаторных нарушений желчного пузыря. Показанная взаимосвязь микробной колонизации слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки, желчи с изменением психоэмоциональной сферы ребенка обосновывает необходимость коррекции лечения, в том числе и микробиоты.

Изучение полиморфизма гена *IL6 –174 G/C* позволяет оценить связь между генетическими особенностями детей и формированием сочетанного *H. pylori*-ассоциированного гастродуоденита и хронического холецистита (ХХ).

Результаты исследования могут быть использованы для оптимизации обследования и лечения детей с сочетанной патологией гастродуоденальной области и желчного пузыря в зависимости от микробной колонизации, в том числе и *H. pylori*.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Избыточная колонизация гастродуоденальной и билиарной областей детей микробными ассоциациями, включающими *H. pylori*, повышает риск развития сочетанных заболеваний органов верхних отделов пищеварительного тракта.

2. Ассоциация аллельных вариантов полиморфизма гена *IL6* в позиции *– 174 GG* у детей с сочетанной гастродуоденальной и билиарной патологией повышает риск микробной колонизации двенадцатиперстной кишки и желчи, в т. ч. *H. pylori.*

3. Прогредиентное течение хронического гастродуоденита в сочетании с патологией желчного пузыря ассоциировано с особенностями вегетативной нервной системы у детей и уровнем микробной колонизации, в т. ч. *H. pylori,* двенадцатиперстной кишки и желчи.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных данных обеспечивается репрезентативным объемом выборки, а также использованием современных методов статистической обработки. Материалы диссертации представлены и обсуждены на научно-практических конференциях Российского уровня, а так же на конференциях с международным участием: на Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием «Микробиология в современной медицине» (Казань, 2013), X Российской конференции «Педиатрия и детская хирургия в Приволжском федеральном округе» (Казань, 2013), XXI Международном конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» (Москва, 2014), XIII Российском конгрессе «Педиатрия и детская хирургия в ПФО» (Казань, 2016), IV Всероссийском научном медицинском форуме студентов и молодых ученых с международным участием «Белые цветы» (Казань, 2017), Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием «Микробиология в современной медицине» (Казань, 2017), XXIV Конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» (Москва, 2017), X Юбилейной Российской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье человека в 21 веке» (Казань, 2018).

По материалам работы было опубликовано 11 работ, в том числе 5 – в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве образования и науки РФ для публикации результатов диссертационных исследований, из них 1 статья в журнале, цитируемом в международной базе Scopus.

Внедрение результатов исследований

Результаты исследования внедрены в работу детского стационара Государственного автономного учреждения здравоохранения (ГАУЗ) «Центральная городская клиническая больница №18» г. Казани. Материалы диссертации используются в педагогическом процессе при обучении студентов на кафедре пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

Личное участие

Весь объем клинических наблюдений и специальных методов исследования осуществлен при участии диссертанта. Автором составлен дизайн, определены цели и задачи, выбраны методы, спланировано проведение исследования по всем разделам диссертации, подготовлен обзор научной литературы по исследуемой проблеме. Диссертант самостоятельно провел фракционное дуоденальное зондирование, генетические исследования и статистическую обработку полученных результатов, сформулировал основные положения работы, выводы и представил практические рекомендации.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста, иллюстрирована 25 таблицами и 26 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов исследования, глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций. Список литературы включает 104 отечественных и 73 зарубежных источника.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования. Для достижения поставленной цели и решения имеющихся задач было проведено проспективное открытое сравнительное исследование, одобренное Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Казанского ГМУ Минздрава России.

На первом этапе проведено обследование 125 детей в возрасте 7–18 лет. Среди них – 105 детей поступили в гастроэнтерологическое отделение 3-го корпуса ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница» Минздрава Республики Татарстан с жалобами на боли в животе и диспепсические явления и 20 детей составили группу контроля.

Всем детям проведен комплекс диагностических мероприятий согласно Отраслевым Стандартам. Пациентам с гастродуоденитом по стандарту «Специализированной медицинской помощи детям при гастрите и дуодените» (приказ Минздрава России от 22 декабря 2012 г. № 1598н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи детям при гастрите и дуодените». При сопутствующем холецистите в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России от 14 мая 2007 г. №332 «Об утверждении медицинской помощи больным с холециститом (при оказании специализированной помощи)». На момент обследования у всех пациентов был период клинико-эндоскопического обострения ХГД. С учетом полученных клинических и лабораторно-инструментальных данных все пациенты первоначально разделены на 3 группы:

1) пациенты (n=21) с изолированными формами ХГД, у которых отсутствовали клинико-диагностические изменения желчного пузыря;

2) сформировали из детей (n=42) с ХГД в сочетании с дискинезией желчного пузыря;

3) пациенты с ХГД в сочетании с хроническим холециститом (n=42).

Группу контроля составили дети (n=20), не имеюшие заболеваний гастродуоденальной и гепатобилиарной систем. У этих пациентов *H. pylori* не был выявлен тремя методами или хотя бы двумя из трех методов исследования.

В дальнейшем в зависимости от колонизации *H. pylori* все пациенты были распределены на следующие группы:

В первую группу (ХГД *H. pylori* «+») вошли дети с диагнозом изолированный ХГД (n=14), у которых *H. pylori* был выявлен тремя методами.

Вторую группу (ХГД *H. pylori* «–») составили пациенты (n=7) с изолированным ХГД без патологии желчного пузыря, у которых не определен *H. pylori*.

Третью группу (ХГД *H. pylori* «+» в сочетании с дискинезией желчного пузыря (ДЖП) сформировали дети (n=20), имеющие ХГД в сочетании с дискинезией желчного пузыря, колонизированные *H. pylori*, выявленный в трех методах исследования.

Четвертую группу (ХГД *H. pylori* «–» с ДЖП) составили дети (n=22) с ХГД, сочетающимся с дискинезией желчного пузыря без колонизации *H. pylori*.

В пятую группу (ХГД *H. pylori* «+» с ХХ) вошли пациенты (n=33) с хроническим гастродуоденитом в сочетании с хроническим холециститом, у которых *H. pylori* был выявлен в трех исследованиях.

Шестая группа (ХГД *H. pylori* «–» с ХХ) сформирована из пациентов (n=9) с хроническим гастродуоденитом и хроническим холециститом, у которых *H. pylori* не установлен ни одним из методов.

Всем детям проведена эзофагогастродуоденоскопия с биопсией слизистой оболочки (СО) луковицы двенадцатиперстной (12-перстной) кишки с последующим микробиологическим и молекулярно-генетическим исследованием биоптатов; фракционное дуоденальное зондирование с дальнейшим микробиологическим и молекулярно-генетическим исследованием порций желчи. Идентификация *H. pylori* осуществлялась с помощью трех диагностических методов: дыхательного уреазного теста (тест-система «Хелик» с индикаторной трубкой; ООО «Ассоциация медицины и аналитики», Россия), полимеразной цепной реакции (ПЦР) (набор реагентов «Хеликопол» (НПФ «Литех», Россия) и бактериологического исследования биоптатов СО 12-перстной кишки и порций желчи (Дорофейчук В. Г., 1997; Морозова Л.Г., 2005).

Генотипирование выделенных штаммов *H. pylori* на наличие генов *cagA, vacA* (субтипы *s1, s2, m1* и *m2*), *babA* проводили с помощью набора реагентов НПФ «Литех» (Москва). Для определения полиморфизма гена *IL6 174 G/C* использовали образцы ДНК пациентов, выделенных сорбентным методом из биоптатов 12-перстной кишки, в соответствии с прилагаемой инструкцией с помощью комплекта реагентов для выделения ДНК «ДНК-сорб-В» (ООО

«ИнтерЛабСервис», Россия). ПЦР проводили на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия) с использованием ДНК-полимеразы и олигонуклеотидных праймеров, синтезированных фирмой НПФ «Литех» (Россия). Нуклеотидные замены определяли после гидролиза амплифицированных фрагментов ДНК с применением соответствующих ферментов рестрикции производства «СибЭнзим» (Россия). Для генотипирования полиморфизма гена *IL6* ДНК-маркером *174 G/C* в ПЦР использовали праймер F:TGACTTCAGCTTTACTCTTTG R:CTGATTGGAAACCTTATTAA и фермент рестрикции SfaNI (B.Ivy et al., 2017).

Для индикации и идентификации аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов биоптатов СО 12-перстной кишки и желчи проводили бактериологическое исследование по классической методике с посевом на 5% кровяной агар, среды Эндо, Плоскирева и желчно-щелочной агар с последующей биохимической идентификацией. Для выделения *H. pylori* посевы выполнялись на кровяной агар с амфотерицином (КАА) и эритрит-кровяной агар с амфотерицином (ЭКАА).

Всем детям исследовалось состояние вегетативной нервной системы с определением исходного вегетативного тонуса (ИВТ) с помощью таблицы А.М. Вейна адаптированной для детского возраста, вегетативной реактивности (ВР) по данным кардиоинтервалографии и вегетативного обеспечения деятельности с использованием активной 10-минутной клиноортостатической пробы (Белоконь Н.А. и соавт., 1987; Вейн А.М., 1998; Беляева Л.М. и соавт., 2013). Психологический статус оценивался с помощью характерологического опросника К. Леонгарда, специально подготовленный для детей, и шкалы личностной тревожности для детей, адаптированный А.М. Прихожан.

Статистический анализ проводился с использованием программ STATISTICA 10 (StatSoft), SPSS Statistics 17 (IBM). Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществляли в электронных таблицах Excel. Нормальность распределения групп исследования определяли по критерию Шапиро-Уилка. Для выявления различия между малыми выборками использовали U-критерий Манна-Уитни. При анализе количественных показателей, проводился расчет средних арифметических величин (M), средних квадратических отклонений (σ) и средних ошибок средней арифметической (m). При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях рассчитывался t-критерий Стьюдента при уровне значимости $p<0,05$. Сравнение показателей, измеренных в номинальной шкале, проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона. В тех случаях, когда значения ожидаемых частот хотя бы в одной из ячеек четырехпольной таблицы были менее 5, рассчитывался критерий χ^2 с поправкой Йейтса. Сравнивая относительные показатели «случай-контроль» в качестве количественной меры эффекта, использовался показатель отношения шансов (Odds Ratio, OR). С целью оценки влияния факторов на результирующую переменную, измеренную

по количественной шкале, применялся корреляционный анализ. Теснота корреляционной связи оценивалась по шкале Чеддока.

Вклад каждого отдельного фактора в дисперсию *H. pylori*–ассоциированной патологии гастродуоденальной области и желчного пузыря у детей определяли по коэффициенту детерминации R^2. Построение прогностической модели риска формирования исхода *H. pylori*–ассоциированной патологии гастродуоденальной области и желчного пузыря у детей выполняли при помощи метода бинарной логистической регрессии. Для оценки полученной прогностической модели, основанной на дискриминантной функции, рассчитывали показатели ее чувствительности и специфичности. Эффективность модели определяли как долю верно предсказанных величин из общего числа проанализированных наблюдений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При микроскопическом исследовании биоптатов СО 12-перстной кишки, установлено, что во всех образцах присутствуют аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы. Видовой спектр микроорганизмов у пациентов исследуемых групп был различен. Отмечено разнообразие аэробной и факультативно-анаэробной микробиоты у детей с изолированным гастродуоденитом, а у пациентов в сочетании с дискинезией желчного пузыря и ХХ микробный спектр был более скудным, но уровень обсемененности выше у пациентов с холециститом (таблица 1).

Таблица 1 — Средний уровень обсемененности аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, выделенных из биоптатов СО 12-перстной кишки

Микроорганизм	Изолированный ХГД (n=6)	ХГД с ДЖП (n=3)	ХГД в сочетании с ХХ (n=3)
	Средний уровень обсемененности (n x 10^4 КОЕ/г)		
Escherichia coli	0,1387x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,06-0,2359)	0,2x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,101-0,305)	1,5x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,971-2,734)
Enterobacter agglomerans	0,0818x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,083-0,326)	0,022x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,009-0,035)	Отсутствует рост микроорганизмов
Klebsiella pneumonia	0,0325x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,042-0,166)	Отсутствует рост микроорганизмов	1,70x10^4 КОЕ/г (95% Cl:1,22-2,378)
Citrobacter koseri	0,0332x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,045-0,177)	0,019x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,014-0,054)	Отсутствует рост микроорганизмов
Enterococcus faecalis	0,0367x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,053-0,208)	Отсутствует рост микроорганизмов	1,10x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,66-3,429)
Staphylococcus saprophyticus	0,0505x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,067-0,265)	0,270x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,163-0,469)	0,40x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,06-0,566)

Продолжение таблицы 1

Микроорганизм	Изолированный ХГД (n=6)	ХГД с ДЖП (n=3)	ХГД в сочетании с ХХ (n=3)
	Средний уровень обсемененности (n x 10^4 КОЕ/г)		
Виды Lactobacterium	0,0405x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,067-0,265)	0,290x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,154-0,499)	Отсутствует рост микроорганизмов
Виды Streptococcus	Отсутствует рост микроорганизмов	0,210x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,101-0,674)	0,4x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,231-0,698)
Candida albicans	0,077x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,076-0,298)	0,20x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,06-0,307)	0,290x10^4 КОЕ/г (95% Cl:1,035-0,501)
Helicobacter pylori	4,8x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,777-3,037)	2,000x10^4 КОЕ/г (95% Cl:0,447-4,023)	3,8x10^4 КОЕ/г (95% Cl:1,341-17,896)

Микробиологическое исследование образцов желчи показало, что у всех пациентов в порции А обнаружены микроорганизмы, но какой-либо четкой зависимости уровня колонизации от формы поражения гастродуоденальной области и желчного пузыря не было отмечено по основным изучаемым видам бактерий (таблица 2).

Таблица 2 — Средний уровень обсемененности аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, выделенных из порции А при дуоденальном зондировании у детей

Микроорганизм	Средний уровень обсемененности		
	ХГД изолированный (n=3)	ХГД с ДЖП (n=3)	ХГД в сочетании с ХХ (n=3)
Escherichia coli	0,015x10^4 КОЕ/мл (95% Cl: 0,013-0,018)	0,14x10^4 КОЕ/мл (95% Cl: 0,0398-0,2843)	0,0775x10^4 КОЕ/мл (95% Cl: 0,0394-2,8205)
Enterobacter agglomerans	Отсутствует рост микроорганизмов	0,011x10^4 КОЕ/мл (95% Cl: 0,0069-0,4964)	Отсутствует рост микроорганизмов
Klebsiella pneumonia	0,166x10^4 КОЕ/мл (95% Cl:0,13-0,20)	Отсутствует рост микроорганизмов	0,165x10^4 КОЕ/мл (95% Cl: 0,0032-0,2256)
Citrobacter koseri	Отсутствует рост микроорганизмов	0,095x10^4 КОЕ/мл (95% Cl: 0,006-0,4287)	Отсутствует рост микроорганизмов
Enterococcus faecalis	0,21x10^4 КОЕ/мл (95% Cl:0,2-0,23)	Отсутствует рост микроорганизмов	0,11x10^4 КОЕ/мл (95% Cl: 0,0063-0,45133)
Staphylococcus saprophyticus	Отсутствует рост микроорганизмов	0,0115x10^4 КОЕ/мл (95% Cl: 0,0003-0,02266)	0,0115x10^4 КОЕ/мл (95% Cl: 0,0003-0,02266)

Продолжение таблицы 2

Микроорганизм	Средний уровень обсемененности		
	ХГД изолированный (n=3)	ХГД с ДЖП (n=3)	ХГД в сочетании с ХХ (n=3)
Виды Lactobacterium	Отсутствует рост микроорганизмов	Отсутствует рост микроорганизмов	Отсутствует рост микроорганизмов
Виды Streptococcus	Отсутствует рост микроорганизмов	$0{,}055 \times 10^4$ КОЕ/мл (95% Cl: 0,0347-2,482)	Отсутствует рост микроорганизмов
Candida albicans	Отсутствует рост микроорганизмов	$0{,}0075 \times 10^4$ КОЕ/мл (95% Cl: 0,0047-0,3385)	$0{,}0625 \times 10^4$ КОЕ/мл (95% Cl: 0,03-2,1436)
Helicobacter pylori	$0{,}49 \times 10^4$ КОЕ/мл (95% Cl:0,429-0,559)	$2{,}7 \times 10^4$ КОЕ/мл (95% Cl: 0,4417-31,5894)	$4{,}2 \times 10^4$ КОЕ/мл (95% Cl: 0,2524-18,0511)

Однако, у всех наблюдаемых детей не обнаружены виды *Lactobacterium*, а уровень колонизации *C. albicans* и *H. pylori* прогредиентно увеличивался по мере выраженности изменений со стороны желчного пузыря.

Микроорганизмы в пузырной порции желчи (порция В) выявлены только у пациентов с ХГД в сочетании с ХХ: *S. saprophyticus* ($0{,}5 \times 10^3$ КОЕ/мл, 95% Cl:0,3-0,7), *C. albicans* ($0{,}4 \times 10^3$ КОЕ/мл, 95% Cl:0,23-0,57), *H. pylori* ($0{,}28 \times 10^3$ КОЕ/мл, 95% Cl: 0,03-0,53). У детей с изолированным ХГД и ХГД в сочетании с дискинезией желчного пузыря не обнаружен рост микроорганизмов.

При проведении корреляционного анализа были выявлены прямые ассоциации между уровнем обсемененности *H. pylori* порций желчи у пациентов с ХГД в сочетании с ХХ с *E. coli* (r=0,59, p=0,005), *K. pneumonia* (r=0,585, p=0,0233), *E. faecalis* (r=0,585, p=0,0233), *S. saprophyticus* (r=0,805, p=0,00126), *C. albicans* (r=0,756, p=0,0013).

Вероятно, такой уровень условно-патогенной микробиоты в составе желчи способствует поддержанию воспаления стенок желчного пузыря, а терапия по стандартам оказания медицинской помощи детям с хроническим холециститом не подразумевает назначение антибактериальной терапии и препаратов, нормализующих микробиоту.

Одним из факторов, способствующего бактериологическому дисбалансу желчи, является холестаз, который обусловлен нарушением коллоидальных свойств желчи. У детей с патологией желчного пузыря по результатам фракционного дуоденального зондирования в 68% случаев установлено изменение коллоидальных свойств желчи с выпадением большого количества кристаллов холестерина и билирубината кальция. При инфекциях желчного пузыря реакция желчи порции В становилась кислой (pH 4,9-4,8) за счет органических кислот бактериального происхождения. У пациентов с ХГД в сочетании с ХХ по сравнению с пациентами, страдающими ХГД в сочетании с дискинезией желчного пузыря, pH желчи был снижен до 4,5 и имел взаимосвязь с показателем двигательной функции желчного пузыря (ПДФ): чем ниже pH

желчи (4,0 – 5,0), тем сильнее сокращение желчного пузыря по данным эхографии (ПДФ от 0,54 – 0,58 при норме 0,59 – 0,75; r=0,77, p=0,00001).

Наличие *H. pylori* было подтверждено всеми тремя методами – у 56 (81,15%), у 57 (82,6%) детей *H. pylori* выявлен двумя методами (ПЦР и *ХЕЛИК*®-тест), у 55 детей (79,71%) – бактериологическим методом и *ХЕЛИК*®-тестом. У 2 (2,9%) пациентов с положительным результатом уреазного дыхательного теста результаты бактериологического и молекулярно-генетического методов оказались отрицательными. Высокие уровни обсемененности *H. pylori* на ЭКАА и КАА чаще выявлялись у пациентов с ХГД в сочетании с хроническим холециститом по сравнению с пациентами, у которых выявлен изолированный ХГД и в сочетании с дискинезией желчного пузыря ($p<0,05$) (таблица 3).

Таблица 3 — Колонизация *H. pylori* на ЭКАА и КАА порций желчи у пациентов с изолированным ХГД и в сочетании с патологией желчного пузыря ($x10^4$ КОЕ/мл)

Порция желчи	Среда	Изолир. ХГД (n=18)	ХГД + ДЖП (n=33)	ХГД +ХХ (n=35)	Группа контроля (n=20)	p
		1	*2*	*3*	*к*	
Порция А	ЭКАА	0,08±0,05	1,31±0,16	9,17±0,17	0,012± 0,01	**p_{1-2}=0,00001** **$p_{1—3}$=0,0001** $p_{1—к}$=0,1883 **$p_{2—3}$=0,0001** **$p_{3-к}$=0,00001**
Порция А	КАА	0,87±0,16	0,91±0,17	1,26±0,19	0,01± 0,008	$p_{1—2}$=0,8646 $p_{1—3}$=0,1227 **$p_{1—к}$=0,0002** $p_{2—3}$=0,1745 **$p_{3—к}$=0,0001**
Порция В	ЭКАА	2,93±0,15	1,03±0,17	4,47±0,17	Отсут-ствует рост	**p_{1-2}=0,00001** **p_{1-3}=0,00001** **$p_{1-к}$=0,00001** **p_{2-3}=0,00001** **$p_{3-к}$=0,00001**
	КАА	1,74±0,16	0,66±0,19	2,47±0,19	Отсут-ствует рост	**p_{1-2}=0,00007** p_{1-3}=0,0049 **$p_{1-к}$=0,00001** **p_{2-3}=0,00001** **$p_{3-к}$=0,00001**
Порция С	ЭКАА	2,32±0,15	0,42±0,18	7,20±0,14	Отсут-ствует рост	**p_{1-2}=0,00001** **p_{1-3}=0,00001** **$p_{1-к}$=0,00001** **p_{2-3}=0,00001** **$p_{3-к}$=0,00001**
	КАА	1,87±0,16	0,26±0,17	2,20±0,20	Отсут-ствует рост	**p_{1-2}=0,00001** **p_{1-3}=0,00001** $p_{1-к}$=0,2035 **p_{2-3}=0,00001** **$p_{3-к}$=0,00001**

Результаты бактериологических исследований на обсемененность *H. pylori* подтверждены определением ДНК методом ПЦР. Были выявлены положительные результаты в образцах желчи у 57 пациентов (66%) в порции А ($p<0,05$).

Образцы ДНК *H. pylori*, выделенные из желчи больных, были проанализированы на присутствие основных факторов патогенности: *vacA, cagA, babA.* Выявлены достоверные различия в наличии генов *cagA.* У детей с изолированным ХГД *cagA* не обнаружен, тогда как у пациентов с сопутствующей холепатией *cag A* был в 42,8% ($p=0,0006$). Ген *babA* выделен только в образцах 35,7% пациентов с сопутствующей билиарной патологией ($p=0,0184$).

Генотип с высоким уровнем цитотоксической активности *vacAs1m1* присутствовал в образцах желчи 35,7% пациентов с ХГД в сочетании с патологией желчного пузыря ($p=0,0123$). *VacAs1m2*, определяющий среднюю патогенность микроорганизма, наблюдали в 21,4% ($p=0,0273$) в этой же группе. Генотип с незначительной цитотоксической активностью (*vacAs2m2)* был выявлен в 37,5% случаев ($p=0,0019$) у детей с изолированным ХГД.

Подверженность заболеванию обусловлена сочетанием в генотипе индивида определенных аллельных вариантов генов, формирующих неблагоприятный наследственный фон (Пузырев В.П. и соавт., 2007; Наследникова И.О. и соавт., 2009). Изучение полиморфизма гена *IL6* показало, что мутации в нуклеотидной позиции *–174 G/C* промоторной области могут приводить к межиндивидульным изменениям транскрипции и экспрессии данного гена и, следовательно, влиять на восприимчивость индивидуума к разнообразным инфекционным заболеваниям (B.Ivy et al., 2017).

При изучении полиморфизма гена *IL6–174 G/C* биоптатов СО 12-перстной кишки установлено, что частота встречаемости генотипа *GG* у детей с ХГД в сочетании с ХХ составляла 67%, что в 1,5 раза превышала данный показатель у пациентов с сочетанной патологией гастродуоденальной области и функциональными нарушениями билиарного тракта ($\chi^2=14,569$, $p<0,01$) (таблица 4). В группе с изолированными формами гастродуоденита данный генотип не встречался. Частота встречаемости генотипа *CC* у пациентов с изолированным ХГД составила 43% ($\chi^2=5,117$ $p<0,05$). У детей с патологией гастродуоденальной области в сочетании с ХХ генотип *CC* не встречался ($p<0,05$).

Таблица 4 — Распределение частот аллелей и генотипов гена *IL6* среди здоровых и пациентов с сочетанной гастродуоденальной и билиарной патологией

Распространен-ность генотипа	ХГД изолированный (n=21)	ХГД +ДЖП (n=24)	ХГД + ХХ (n=24)	Контроль rs1800795 европеоидной популяции (База 1000 Genomes)
GG	0	0,42	0,67	0,36
GC	0,33	0,25	0,33	0,449
CC	0,67	0,33	0	0,191
χ^2 (P–value)	5,117, (p<0,05)	3,462, (p>0,05)	14,569, (p<0,01)	

Продолжение таблицы 4

Распространенность аллелей	ХГД изолированный (n=21)	ХГД +ДЖП (n=24)	ХГД + ХХ (n=24)	Контроль rs1800795 европеоидной популяции (База 1000 Genomes)
G	0,17	0,54	0,83	0,584
C	0,83	0,46	0,17	0,416
OR	0,217	1,285	5,435	

Изучение распространенности генотипов гена *IL6* у детей с ХГД в зависимости от *H. pylori* выявило, что генотип *GG* регистрировался у *H. pylori*-позитивных детей с ХГД в сочетании с патологией билиарного тракта (таблица 5). При изолированном ХГД независимо от наличия или отсутствия инфекции данный генотип не встречался ни у одного пациента. У детей с изолированным ХГД, ассоциированных с *H. pylori,* в 2/3 случаев установлен гетерозиготный *GC*-генотип, а без *H. pylori* – в 68,75% был генотип *CC*.

Таблица 5 — Распространенность генотипов гена *IL6* среди детей с сочетанной гастродуоденальной и билиарной патологией в зависимости от колонизации *H.pylori*

Генотип	Изолированный ХГД (n=21), в т.ч.		ХГД + ДЖП (n=24), в т.ч.		ХГД + ХХ (n=24), в т.ч.	
	HP + (n=5)	*HP* - (n=16)	*HP* + (n=8)	*HP* - (n=16)	*HP* + (n=14)	*HP* - (n=10)
GG	0%	0%	62,5%	31,25%	57,1%	50%
GC	60%	31,25%	25,0%	18,75%	42,9%	50%
CC	40%	68,75%	12,5%	50%	0%	0%

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют об ассоциации аллельных вариантов гена *IL6* с сочетанной патологией гастродуоденальной и билиарной областей, колонизированных *H. pylori*, особенно в позиции *–174 G/C*. Носители аллельного варианта *–174 G* гена *IL6* имеют повышенный риск к колонизации.

Клиническая симптоматика у пациентов исследуемых групп отличалась полиморфизмом. При анализе сроков начала заболевания выявлена тенденция, указывающая на то, что чаще обращаются в стационар дети с ХГД, ассоциированным с *H. pylori*, в сочетании с ХХ и давностью заболевания более 3 лет. У 30,56% пациентов с ХГД в сочетании с ХХ, колонизированных *H.pylori*, достоверно чаще имелись рецидивы заболеваний по сравнению с 9,52% пациентами с изолированным ХГД с *H. pylori*.

Ведущим признаком у детей с ХГД, колонизированных *H.pylori*, явилось сочетание ранних и поздних болей у 58% детей (39 из 67 детей с ХГД, ассоциированных *H.pylori*), тогда как у детей без *H. pylori* такой характер болей встречался в 2 раза реже (у 14 детей). Достоверно чаще подобные боли были при сочетании ХГД с *H. pylori* и ХХ. Диспепсический синдром проявлялся

отрыжкой воздухом у 38%, горьким 10%, тошнотой у 45% *H. pylori*-позитивных пациентов, что регистрировалось чаще по сравнению с детьми без *H. pylori*.

Пациенты при поступлении отмечали сопутствующие жалобы, связанные с астеновегетативными проявлениями. Они чаще были при ХГД в сочетании с ХХ. У 46% детей, страдающих ХГД в сочетании с патологией билиарного тракта, колонизированных *H. pylori*, была выраженная слабость и быстрая утомляемость против 13% детей с изолированным гастродуоденитом, ассоциированным с *H. pylori* (χ^2=7,836, p=0,006).

Инструментальные исследования выявили различия между группами пациентов в зависимости от колонизации *H. pylori*. При ультразвуковом обследовании органов гепатобилиарной системы чаще определялись уплотнения и утолщения стенок желчного пузыря (52,3% детей с ХГД в сочетании с билиарной патологией, колонизированных *H. pylori*), умеренный осадок в просвете желчного пузыря (у 35,7%), наличие «сладж–синдрома» (у 25%). Эндоскопические изменения слизистой оболочки желудка и 12-перстной кишки у *H. pylori*-колонизированных пациентов проявлялись в виде грубо выраженной гранулярной зернистости по сравнению с детьми, не колонизированными *H. pylori* (χ^2=4,701, p=0,031). Данная картина у *H. pylori*-позитивных пациентов с ХГД в сочетании с патологией желчного пузыря, вероятнее всего, связана с факторами патогенности этого микроорганизма, приводящими к стойким воспалительным изменениям, моторно-эвакуаторным расстройствам органов ВОПТ, в том числе билиарного тракта.

Важную роль в патогенезе развития хронических воспалительных заболеваний ВОПТ играет вегетативная нервная система. Она оказывает существенное влияние на моторику, секрецию соляной кислоты, ферментов, синтез компонентов защитной слизи. Настоящим исследованием выявлено, что у всех обследованных детей (100%) отмечена дисрегуляция вегетативной нервной системы. Оценка ИВТ показала, что у детей с ХГД в сочетании с билиарной патологией преобладал ваготонический тип, крайне редко симпатикотония. При сравнении пациентов, страдающих ХГД в сочетании с ХХ, в зависимости от колонизации *H. pylori* и с учетом ИВТ было выявлено, что у большинства детей с *H. pylori* преобладала ваготония (χ^2=6,121, p=0,014). Вегетативная реактивность по отношению индексов напряжения в ортоположении и в состоянии покоя была с преобладанием гиперсимпатикотонического типа у детей с ХГД в сочетании с билиарной патологией, контаминированных *H. pylori* (p=0,013).

Можно полагать, что обострение хронического воспалительного процесса в желчном пузыре, обусловленное микробной колонизацией, в том числе *H. pylori* и связанное с накоплением микробных метаболитов, вызывает реактивное напряжение симпатического отдела ВНС. Подобные изменения отражают адаптационную перестройку ВР. Однако возникающая гиперсимпатикотония может привести к усугублению нарушений пассажа желчи и трофики стенок желчного пузыря.

Психосоматический генез гастроэнтерологических болезней у детей прослеживался в той или иной степени в 40–50%. У части детей эти проявления

могут быть определяющими, имеющими моносистемный характер, но у большинства — выступающими в сочетании с нарушениями других органов и систем (Антропов Ю.Ф., Шевченко Ю.С., 2001; Бельмер С.В., 2013).

Акцентуации характера относятся к специфическим чертам характера, отмечаемые с рождения, которые не являются основными причинами патологического формирования личности, но могут стать значимыми в развитии заболеваний (Реан А.А. и соавт., 2002). Нами показано, что особенности акцентуаций личности по характерологическому опроснику К. Леонгарда у детей с ХГД в сочетании с ХХ выражались в преобладании эмонтивного типа (63,8% опрошенных, средний балл 18,3), циклотимного (58,9% детей, средний балл 17,7), педантичного (55% пациентов, средний балл 17,4) и экзальтированного типа (86,5% опрошенных, средний балл 18).

Таким образом, у наблюдаемых детей выявлены как акцентуации, в основе которых лежат энергодинамические проявления (демонстративность, циклотимность), так и акцентуации, где превалируют эмоции и чувства (эмонтивность, тревожность, экзальтированность).

В зависимости от наличия и выраженности сочетанной патологии отмечено, что дети с изолированным ХГД в соответствии с опросником для детей по адаптации А.М. Прихожан имели нормальный уровень тревожности, необходимый для адекватной адаптации и продуктивной деятельности (у 62%). Максимально выраженный уровень тревожности (V уровень) у них не зарегистрирован. У детей с ХГД в сочетании с ХХ в 3 раза чаще, чем у детей с дискинезией желчного пузыря (соответственно, у 14% детей против 2%) был максимально выраженный уровень тревожности V степени (рисунок 1).

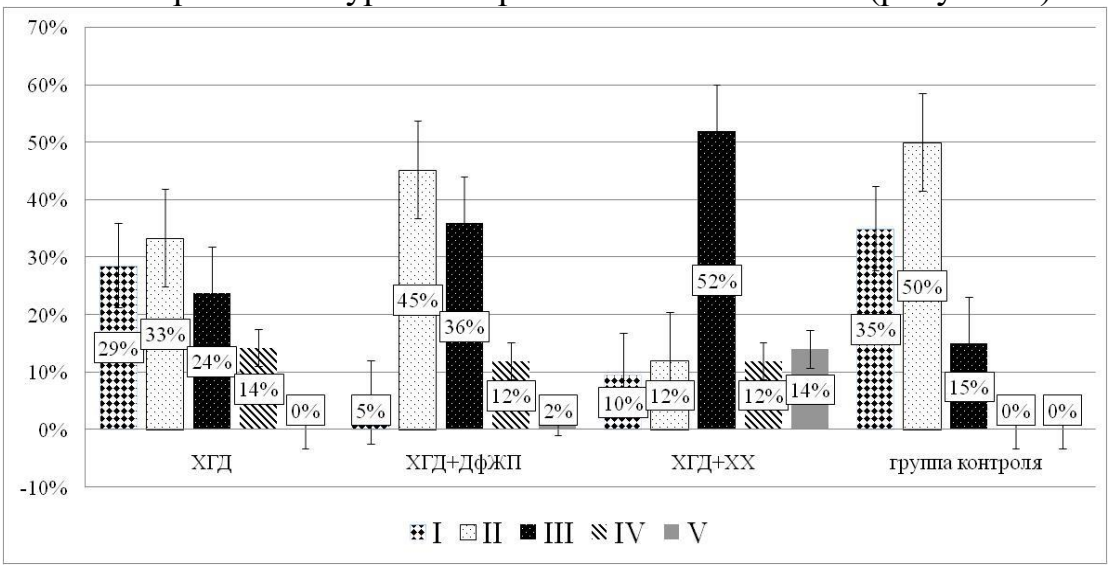

Рисунок 1 – Уровень тревожности у детей с хроническим гастродуоденитом и сочетанной патологией желчного пузыря

Установлено, что в исследуемых группах пациентов, страдающих нарушениями моторно-эвакуаторных свойств желчного пузыря, был повышенный уровень тревожности. Такая тенденция особенно выражена в группе пациентов, колонизированных *H. pylori*. У всех детей с *H. pylori* отмечали явно повышенный уровень тревожности (IV — V степени). При этом

у пациентов с ХГД в сочетании с ХХ этот показатель был статистически значимым (χ^2=5,779, p=0,017).

Изучение клинических и лабораторно-инструментальных показателей у пациентов с ХГД, колонизированных *H.pylori*, в сочетании с патологией билиарного тракта позволило отобрать те факторы, действие которых может быть установлено на стадии функциональных нарушений. Для оптимизации работы врача была разработана компьютерная программа (модель реализована в файле формата MS Excel), позволяющая после внесения индивидуальных показателей пациента рассчитать вероятность формирования *H. pylori*–ассоциированного ХГД с ХХ. Она может применяться как скрининг-программа на амбулаторно-поликлиническом этапе обследования пациентов.

В результате проведенного статистического анализа нами была получена следующая прогностическая модель по формуле 1:

$$p = 1 - \frac{1}{1+e^{-z}}$$

$z=0{,}255-7{,}56x_{пол}-2{,}55x_{возраст}-0{,}15x_{НЯБ/Рак}+0{,}21x_{НЖКБ}-0{,}633x_{длит}-0{,}2667x_{обостр}-0{,}008x_{ППл}+0{,}084x_{ПРаздр}-0{,}0058x_{УПП}$, (1),

где p – вероятность формирования *H. pylori*–ассоциированного гастродуоденита с холециститом (неблагоприятного исхода), а в качестве переменных учитывали пол ребенка ($x_{пол}$), возраст ($x_{возраст}$), отягощенную наследственность по язвенной болезни/раку желудка ($x_{НЯБ/Рак}$), наследственность по желчнокаменной болезни ($x_{НЖКБ}$), длительность абдоминального болевого и диспепсического синдрома (в годах) ($x_{дли}$), частоту обострения абдоминального болевого и диспепсического синдрома в год ($x_{обост}$), повышенную плаксивость ($x_{ППл}$), постоянная раздражительность при общении с людьми ($x_{ПРаздр}$), чувство усталости после пробуждения ($x_{УПП}$) (χ^2 = 16,583, p<0,05, Se=48,5%, Sp=68,8%).

С учетом полученных в данной работе результатов о роли психо-эмоциональных особенностей детей, изменений вегетативной нервной системы и микробного фактора, в т.ч. *H.pylori* в формировании заболеваний гастродуоденальной и билиарной областей с помощью математического анализа разработана другая модель прогнозирования, включавшая в качестве факторных признаков: пол, возраст, ИВТ, ВР, уровень роста *H. pylori* на биоптате СО 12-перстной кишки (×10^4 КОЕ/г), гены штамма *H. pylori: cagA, babA,* ген *vacAs1/m1,* генотип *vacAs2/m2,* генотип *GG* полиморфизма гена *IL6 - 174 G/C,* генотип *CC* полиморфизма гена *IL6 – 174 G/C* (формула 2):

$$p = 1 - \frac{1}{1+e^{-z}}$$

$z=0{,}0317-2{,}673x_{пол}-3{,}42x_{возраст}-2{,}274x_{ИВТэйтония}-1{,}919x_{ИВТсимпатикотония}-2{,}0994x_{ИВТваготония}+0{,}199x_{ВРнорм}-2{,}898x_{ВРгиперсимпат}-0{,}024x_{ВРасимпатикотоноч}-3{,}74x_{НРна биоптате}-1{,}038x_{cagA}+0{,}815x_{babA}-2{,}233x_{vacAs1/m1}+1{,}075x_{vacAs2/m2}-2{,}077x_{-174GGIL6}-0{,}0012\,x_{-174CCIL6}$, (2),

где p – вероятность формирования *H. pylori*–ассоциированного гастродуоденита с холециститом (неблагоприятного исхода), а в качестве переменных

учитывали пол ребенка ($x_{пол}$), возраст ($x_{возраст}$), эйтонию ИВТ ($x_{ИВТэйтония}$), симпатикотонию ИВТ ($x_{ИВТсимпатикотония}$), ваготонию ИВТ ($x_{ИВТваготония}$), нормальную ВР ($x_{ВРнорм}$), гиперсимпатикотоническую ВР ($x_{ВРгиперсимпат}$), асимпатикотническую ВР ($x_{ВРасимпатикотонич}$), уровень роста *H. pylori* ($x_{НРна биоптате}$), генотип штамма *H. pylori cagA* (x_{cagA}), генотип штамма *H. pylori babA* (x_{babA}), генотип штамма *H. pylori vacAs1/m1*($x_{vacAs1/m1}$), генотип штамма *H. pylori vacAs2/m2* генотип штамма *H. pylori* ($x_{vacAs1/m2}$), генотип *GG* полиморфизма гена *-174 G/C* ($x_{-174GGIL6}$), генотип *CC* полиморфизма гена *-174 G/C* ($x_{-174CCIL6}$).

В результате получено значение χ^2=178,2 (p<0,001), Se=72,8% и Sp= 81,4% что выше, чем для первой модели (Se=48,5%, Sp=68,8%). Учитывая более высокие показатели чувствительности и специфичности второй модели прогнозирования предпочтительнее ее использовать в качестве персонифицированного подхода с целью прогнозирования формирования *H. pylori*–ассоциированного гастродуоденита с хроническим холециститом.

Учитывая все вышеизложенное, можно говорить о новых взглядах на механизмы формирования холепатий у детей с хроническим гастродуоденитом. Ведущую роль в развитии дискинезии билиарного тракта играет особенность регуляции ВНС, проявляющаяся в ваготонии ИВТ и гиперсимпатикотонии. На фоне такой нестабильности ВНС возникала дискинезия желчного пузыря, преимущественно по гипомоторному типу, подтвержденная динамической эхографией. Сниженная сократительная функция желчного пузыря формировала условия для стаза содержимого в просвете билиарного тракта с изменением свойств желчи (pH 4,5 при норме pH 7,4 — 8,0), появлением кристаллов холестерина, билирубината кальция. Это создавало благоприятные условия для микробной контаминации желчи (*E.coli, E. agglomerans, K. pneumonia, C. koseri, E. faecalis, S. saprophyticus, виды Lactobacterium, виды Streptococcus, C. albicans, H. pylori*). У пациентов с сопутствующей холепатией уровень роста микроорганизмов в желчи был более значительным при ограниченном видовом разнообразии. Наиболее высокий уровень роста *C. albicans* и *H. pylori* отмечен у детей, страдающих ХГД в сочетании с ХХ.

Результаты работы подтверждают гипотезу о том, что предрасположенность к развитию сочетанной патологии ХГД и желчного пузыря, может быть также ассоциирована с микробной инфекцией, поддерживающей хроническое воспаление. Доказано, что у детей с ХГД, ассоциированным с *H. pylori*, в сочетании с патологией желчного пузыря достоверно чаще определяли генотип *GG* полиморфизма гена *IL6* в позиции *–174 G/C,* отражающий повышенную выработку этого провоспалительного цитокина.

Экспериментально доказано, что инфицирование патогенными микроорганизмами повышает тревожность и снижает когнитивные способности (Глинин Т.С., 2018). Проведенные нами исследования по изучению психологического состояния выявили высокий уровень тревожности у детей с ХГД, ассоциированного с *H. pylori*. Возможно, это реализуется через влияние микробиоты ЖКТ на ЦНС посредством ее низкомолекулярных метаболитов на

чувствительные нервные окончания (Аверин О.И., Даниленко В.Н., 2017). Микробные метаболиты модулируют активность блуждающего нерва, влияя на функции головного мозга.

Бактериальный процесс сопровождается избыточным выбросом микробных продуктов, вызывающих реактивное напряжение симпатического отдела ВНС, и отражает адаптационную перестройку вегетативной регуляции. Это подтверждено в проведенном нами исследовании, у пациентов, колонизированных *H. pylori*, страдающих ХГД. У них достоверно чаще выявляли ваготонический тип ИВТ и гиперсимпатикотоническую ВР, что в дальнейшем могло привести к усугублению нарушений пассажа желчи и трофики стенок желчного пузыря. Полученные данные могут послужить основанием для формирования концепции существования не только оси «микробиота–кишечник–мозг», но и оси «микробиота–билиарный тракт–мозг».

ВЫВОДЫ

1. У детей, страдающих хроническим гастродуоденитом, в 80% случаев наблюдали сочетанное течение с патологией желчного пузыря. У пациентов с хроническим гастродуоденитом, ассоциированным с холепатиями в биоптатах СО 12-перстной кишки и порциях желчи выявлен средний уровень колонизации *E. coli, E. agglomerans, K. pneumonia, C. koseri, E. faecalis, S. saprophyticus,* виды *Streptococcus, C. albicans, H. pylori* на фоне отсутствия видов *Lactobacterium*. Видовой спектр аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов у детей с гастродуоденитом в сочетании с холециститом был скудным с преобладанием *C. albicans* и *H. pylori.*

2. У пациентов с хроническим гастродуоденитом в сочетании с хроническим холециститом чаще выявлялись высоковирулентные штаммы *vacAs1/m1, cagA + u babA+ H. pylori*, тогда как при изолированных формах ХГД встречался менее вирулентный генотип *vacAs2/m2* штамма *H. pylori.*

3. У детей с хронической гастродуоденальной патологией в сочетании с хроническим холециститом гомозиготность по аллелю *G* полиморфизма гена *IL6* в позиции *–174 G/C* составила 67%. Генотип *GG* чаще выявлялся у *H. pylori*–позитивных пациентов с хроническим гастродуоденитом в сочетании с патологией желчного пузыря по отношению к пациентам с изолированным поражением желудка и двенадцатиперстной кишки, не колонизированных *H. pylori* (χ^2=13,468, p<0,01).

4. Изучение клинических, лабораторно-инструментальных, психоэмоциональных и вегетативных особенностей детей установило этапы формирования хронического гастродуоденита в сочетании с холепатией. Первоначально возникали моторно-эвакуаторные нарушения желчного пузыря, провоцируемые дисрегуляцией вегетативной нервной системы в виде преобладания парасимпатического тонуса (среднее число парасимпатических признаков 18±0,45 признаков (p<0,05) и гиперсимпатикотонической вегетативной реактивности ($ИН_1$ менее 30 усл. ед. в среднем более 3). В дальнейшем развивался дисбиоз СО двенадцатиперстной кишки и желчи, способствующий развитию холецистита.

5. Колонизация слизистой оболочки 12-перстной кишки и желчи *H. pylori* у детей с хроническим гастродуоденитом соотносится с высоким уровнем тревожности (IV–V степени), особенно в группе детей в сочетании ХГД с хроническим холециститом. Установленная взаимосвязь между выраженностью изменений психоэмоционального фона, показателем двигательной функции желчного пузыря у детей с ХГД, ассоциированных с *H. pylori*, не исключает существование оси «микробиота–билиарный тракт–мозг».

6. Разработанная прогностическая модель для определения вероятности формирования сочетанной *H. pylori*–ассоциированной патологии гастродуоденальной области и желчного пузыря на основании анамнестических данных и результатов изучения деятельности вегетативной нервной системы, обнаружения высокопатогенных штаммов *H. pylori (vacAs1m1, cagA+ и babA+)* и носительства аллельного варианта *–174 G* гена *IL6* позволяет более чем в 81,4% случаев оценить риск возникновения хронического гастродуоденита, ассоциированного с колонизацией *H. pylori*, в сочетании с хроническим холециститом на этапе функциональных нарушений у детей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При первичном обращении детей с жалобами на боли в животе и диспепсические явления для выявления групп риска по формированию *H. pylori*-ассоциированного хронического гастродуоденита в сочетании с патологией желчного пузыря в качестве скрининга необходимо провести сбор анамнестических данных для расчета индивидуального прогноза развития заболевания по разработанной методике.

При установлении у пациента высокого риска прогредиентного течения хронического *H. pylori*-ассоциированного гастродуоденита в сочетании с холециститом рекомендуется помимо обследований, определенных стандартами оказания медицинской помощи детям, провести комплексное исследование вегетативной нервной системы, микробиологическое и молекулярно-генетические тестирование биоптатов слизистой оболочки 12-перстной кишки.

2. С целью персонифицированного подхода к профилактике развития у детей *H. pylori*-ассоциированного гастродуоденита в сочетании с патологией желчного пузыря рекомендовано генотипирование *H. pylori* и определение полиморфизма гена *–174 G/C IL6*.

3. С учетом выявленной аэробной и факультативно-анаэробной микробиоты СО 12-перстной кишки и желчи у пациентов с хронической гастродуоденальной патологией при скудном видовом разнообразии микробиоты показано в комплекс терапии детей с сочетанной патологией гастродуоденальной и гепатобилиарной систем включать мероприятия по восстановлению микробного пейзажа.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

На сегодняшний день остается открытым вопрос — что первично в развитии нарушений деятельности ВНС: надсегментарные структуры или дисбаланс развивается на локальном уровне (энтеральная нервная система) под действием метаболитов микробиоты?

Перспективным является изучение микробиоты у пациентов с хронической патологией гастродуоденальной, желчного пузыря с помощью современных методов - генетических (культурально-независимых), таких как метагеномика.

Целесообразно исследовать микробиом СО органов ВОПТ и желчи с последующей функциональной метагеномикой для объяснения роли микроорганизмов в патогенезе прогредиентного течения хронических заболеваний и поиска эффективных терапевтических средств.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Значимость полиморфизма гена - *174 G/C IL6* у детей с сочетанной гастродуоденальной и билиарной патологией, ассоциированной с *Helicobacter pylori* / М.А. Казакова, Р.А. Файзуллина, И.И. Ахметов и др. // Практическая медицина. — 2018. — № 2 (113). — С.47-51.**

2. **Казакова, М.А. Особенности микроэкологических нарушений органов гастродуоденальной области и гепатобилиарной системы у детей / М.А. Казакова // Вестник современной клинической медицины. — 2017. — Т. 6, № 6. — С.15-20.**

3. **Видовой спектр микрофлоры слизистой оболочки верхних отделов пищеварительного тракта и ее влияние на развитие патологии у детей / М.А. Казакова, О.К. Поздеев, Ю.В. Валеева и др. // Казанский медицинский журнал. — 2017. — Т. 98, № 4. — С.557-563.**

4. Морозова, Л.Г Оценка характера микробных ассоциаций биоптатов слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и порций желчи у детей с сочетанной патологией гастродуоденальной и гепатобилиарной систем / Л.Г. Морозова, Р.А. Файзуллина, М.А. Казакова // Материалы Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием «Микробиология в современной медицине» — Казань, 2017. — С.45-46.

5. Файзуллина, Р.А. Особенности психологического статуса у детей с сочетанной патологией гастродуоденальной и билиарной зоны / Р.А. Файзуллина, М.А. Казакова // Журнал национального общества диетологов Общества детских гастроэнтерологов и Международной организации Consensus in Pediatrics Вопросы детской диетологии — 2017. — Т. 15, № 2 — С.57.

6. Казакова, М.А. Полиморфизм гена - *174 G/C IL6* у детей с сочетанной патологией гастродуоденальной и билиарной зон, ассоциированной с *H.pylori* / М.А. Казакова, Р.А. Файзуллина // Сборник тезисов IV Всероссийского научного медицинского форума студентов и молодых ученых с международным участием «Белые цветы». — Казань, 2017. — С. 353-354.

7. **Казакова, М.А. Клинико-анамнестические особенности течения патологии органов гастродуоденальной зоны, ассоциированных с инфекцией *H. pylori* у детей / М. А. Казакова, Р.А. Файзуллина // Практическая медицина — 2016. — № 08 (100). — С.100-103.**
8. **Файзуллина, Р.А. Особенности поражения гепатобилиарной системы у детей с *Helicobacter pylori*-ассоциированной инфекцией / Р.А. Файзуллина, М.А. Казакова // Журнал национального общества диетологов Общества детских гастроэнтерологов и Международной организации Consensus in Pediatrics Вопросы детской диетологии. — 2016. — Т.10, №6. — С.5-10.**
9. Влияние микробной колонизации на течение патологии гастродуоденальной и гепатобилиарной зон у детей / Р.А. Файзуллина, М.А. Казакова, О.К. Поздеев и др. // Сборник материалов XXI Международного конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей». —Москва, 2014. — С.96-98.
10. Состояние гепатобилиарной системы у детей с *H.pylori* –ассоциированной инфекцией / Р.А. Файзуллина, М.А. Казакова, О.К. Поздеев и др. // Сборник материалов X Российской конференции «Педиатрия и детская хирургия в Приволжском Федеральном округе». —Казань, 2013. — С.25-26.
11. Казакова, М.А. Влияние микробной колонизации на степень поражения верхних отделов пищеварительного тракта у детей / М.А. Казакова, Р.А. Файзуллина // Материалы Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием». — Казань, 2013. — С.156-157.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Se – чувствительность
Sp – специфичность
IL - интерлейкин
12-перстная кишка – двенадцатиперстная кишка
H. pylori – Helicobacter pylori
АКТГ – Адренокортикотропный гормон
ВНС – вегетативная нервная система
ВОД – вегетативное обеспечение деятельности
ВОПТ – верхний отдел пищеварительного тракта
ВР – вегетативная реактивность
ДЖП – дискинезия желчного пузыря
ЖКТ - желудочно-кишечный тракт
КОП - клиноортостатическая проба
ИВТ – исходный вегетативный тонус
КАА – кровяной агар с амфотерицином
СО – слизистая оболочка
УЗИ – ультразвуковое исследование
ХГД– хронический гастродуоденит
ХХ – хронический холецистит
ЭКАА - эритрит-кровяной агар с амфотерицином