

На правах рукописи

Ожиганова Наталья Владимировна

**ОСОБЕННОСТИ АУТОИММУННОГО ГАСТРИТА
В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ – РЕГИОНЕ С ВЫСОКОЙ
HELICOBACTER PYLORI-ИНФИЦИРОВАННОСТЬЮ НАСЕЛЕНИЯ**

3.1.18. Внутренние болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Научно-исследовательском институте терапии и профилактической медицины – филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Белковец Анна Владимировна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Цуканов Владислав Владимирович

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, заведующий клиническим отделением патологии пищеварительной системы у взрослых и детей

член-корреспондент РАН,

доктор медицинских наук, профессор

Ливзан Мария Анатольевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ректор, заведующий кафедрой факультетской терапии и гастроэнтерологии

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А. С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы»

Защита диссертации состоится «20» декабря 2024 г. в 14:00 на заседании диссертационного совета 24.1.239.02 созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» по адресу: 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, д. 175/1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, д. 175/1, <https://iimed.ru>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук

С. В. Мустафина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Аутоиммунный гастрит (АИГ) – представляет собой воспаление слизистой оболочки тела желудка с аутоиммунным механизмом развития, в результате которого развивается атрофия фундальных желез, гипо и ахлоргидрия [Hall S. N. et al, 2019, Correa P., 2004]. Функциональная недостаточность желез желудка приводит к развитию дефицитов, преимущественно железа и витамина В₁₂, что зачастую и обуславливает первые симптомы заболевания. Помимо этого, при АИГ повышаются риски развития двух злокачественных новообразований – аденокарциномы и карцинома I типа [Bizzaro N. et al, 2018].

Распространенность АИГ по разным источникам варьируется от 1 до 5% [Notsu T. et al, 2019, Bakulina N. et al, 2022]. Однако данные эпидемиологических исследований ограничены, в том числе, ввиду плохой выявляемости заболевания, отсутствия точных диагностических алгоритмов.

Частота АИГ в России при оценке серологических биомаркеров атрофии у 1283 бессимптомных лиц составила 2,6% [Bakulina N. et al, 2022]. Заболевание затрагивает все возрастные и расовые группы, однако чаще встречается у женщин, чем у мужчин (2:1) и в более старших возрастных группах [Rustgi S. D. et al, 2021].

Этиология АИГ, как и других аутоиммунных заболеваний, неизвестна. Сочетание генетических и факторов окружающей среды представляется более вероятным. Роль *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), как возможного триггера АИГ продолжает активно изучаться. Исследования показывают высокую гомологию между β-субъединицей уреазы *H. pylori* и субъединицей β желудочного протонного насоса, что может в свою очередь вызвать перекрестную иммунную реакцию и запустить аутоиммунный процесс [Chmiela M. et al, 2017].

Согласно эпидемиологическим данным, в Сибирском регионе, включая Новосибирск, выявлена высокая распространённость *H. pylori* инфекции, в т.ч. цитотоксического (CagA+) штамма [Курилович С. А. и соавт., 2015]. Известно, что риск развития рака желудка (РЖ) в большей степени зависит от стадии атрофического гастрита, типа метаплазии и площади замещения желудочного эпителия [Coati I. et al, 2015, Shah S. C. et al, 2021]. По данным некоторых европейских исследований для так называемого «чистого» АИГ (без *H. pylori* инфекции) более характерна псевдопилорическая метаплазия, проканцерогенный потенциал которой ниже, чем у кишечной метаплазии [Hall S. N. et al, 2019]. Эксперты Маастрихтского VI соглашения пришли к выводу, что тяжелая атрофия (стадии III-IV по системе Operative link for gastritis assessment (OLGA)) при гастрите, ассоциированном с *H. pylori*, несет более высокий риск развития РЖ по сравнению с атрофией при АИГ [Malfertheiner P. et al, 2022].

Однако в условиях сопутствующей *H. pylori* инфекции (с учетом разной цитотоксичности циркулирующих штаммов) морфологическая картина атрофии и её прогрессирование могут быть иными. Изучение влияния *H. pylori* на развитие и течение АИГ, в том числе в Западной Сибири, является актуальной задачей.

Аутоиммунный гастрит длительно протекает бессимптомно и не имеет патогномичных эндоскопических и морфологических признаков на ранних стадиях [Guo Y. et al, 2020]. Зачастую гематологические нарушения на фоне дефицитов железа и/или витамина В₁₂, а также симптомы ассоциированных аутоиммунных заболеваний, особенно аутоиммунного тиреоидита (АИТ), служат причиной для обследования пациентов [Esposito G. et al, 2022, Kryssia I. R. C. et al, 2018]. Серологическая диагностика с определением таких биомаркеров, как пепсиноген I (ПГИ), соотношение ПГИ/ПГII и гастрин-17 позволяет выявить аутоиммунный фенотип гастрита, в том числе на доклинических стадиях [Chapelle

N. et al, 2023]. До настоящего времени в клинической практике широко использовалась финская тест-система «ГастроПанель», однако в силу дороговизны, применение её в качестве скринирующего метода в России ограничено. Апробация и валидизация отечественных тест-систем, а также установление диагностических критериев биомаркеров желудочной атрофии для определения аутоиммунного фенотипа гастрита, являются актуальными и перспективными для практического применения.

Несмотря на общность симптомов при АИГ, течение заболевания, скорость прогрессирования атрофии, развитие анемии и РЖ, отличаются у разных пациентов, что, вероятно, связано с влиянием генетических факторов. Поэтому молекулярно-генетические исследования полиморфизма генов-кандидатов не теряют своей актуальности и в настоящее время.

Степень разработанности темы диссертации

Аутоиммунный гастрит, особенно его неатрофическую стадию, распознают редко из-за скудности клинических признаков, поэтому диагноз ставится, как правило, на поздних стадиях. Сложно сделать выводы и о тенденциях распространённости АИГ из-за методологических проблем, включая исключение текущей или предыдущей коморбидности с *H. pylori* инфекцией, которая по некоторым данным оказывает влияние как на течение заболевания, так и на риск развития аденокарциномы желудка [Rustgi S. D. et al, 2021].

АИГ самостоятельно несет также риски серьезных заболеваний, таких как нейроэндокринная опухоль (НЭО) I типа и тяжелая пернициозная анемия (ПА), что приводит к изменению параметров эритроцитов и это может послужить в качестве дополнительного диагностического критерия. Исследования свойств эритроцитов у данной группы пациентов ранее не проводились. Существующие серологические маркеры АИГ порой не обладают высокой чувствительностью и специфичностью, а морфологические исследования не всегда проводятся в соответствии с протоколами [Ogutmen Koc D. et al, 2022]. Внедрение так называемой серологической биопсии с использованием биомаркеров атрофии, объединённых в тест-панели, позволило расширить возможности диагностики и скрининга [Syrjänen K. et al, 2022], однако пороговые значения для АИГ не определены. Генетическая предрасположенность к АИГ анализируется во многих исследованиях [Lahner E. et al. 2015, Iwamuro M. et al, 2023], но результаты этих работ достаточно противоречивы и разнородны.

Цель исследования

Изучить клинические, лабораторные, генетические и морфологические особенности аутоиммунного гастрита в зависимости от *Helicobacter pylori*-инфекции у пациентов в Западной Сибири для оптимизации ранней диагностики и тактики ведения.

Задачи исследования

1. Проанализировать клинико-anamnestические, лабораторные показатели обмена железа, витамин В₁₂, антитела к париетальным клеткам желудка (АПК) и внутреннему фактору (АВФ), тиреотропный гормон (ТТГ), вязкоупругие свойства эритроцитов, эндоскопические и морфологические особенности аутоиммунного гастрита в зависимости от *Helicobacter pylori*-инфекции с учетом цитотоксического CagA⁺ штамма у пациентов в Западной Сибири.

2. Определить уровни и серологические диагностические критерии желудочной атрофии у пациентов с аутоиммунным гастритом с использованием двух тест-систем («ГастроПанель» и «ГастроСкрин-3»). Оценить частоту аутоиммунного гастрита в случайной выборке жителей г. Новосибирска 45–69 лет и в текущей клинической практике на основании установленных показателей биомаркеров атрофии (ПГ I, ПГ I/ПГ II и гастрин-17).

3. Изучить ассоциации полиморфизмов генов *IL1B* (rs16944), *TNF* (rs1800629), *TCN2* (rs9606756), *BACH2* (rs3757247) у пациентов с АИГ в Западной Сибири.

Научная новизна

В результате комплексного исследования была выявлена высокая распространенность инфекции бактерией *H. pylori* среди пациентов с АИГ в Западной Сибири (47 %), причем в 53 % выявлен цитотоксический CagA+ штамм.

Впервые в России проведено сравнение двух серологических тест-систем: «ГастроПанель» (Биохит, Финляндия) и «ГастроСкрин-3» (Вектор Бест, Россия) среди пациентов с АИГ и контрольной группой. Исследование позволило определить серологические параметры биомаркеров атрофии для диагностики аутоиммунного варианта гастрита. Для тест-системы «ГастроПанель» они составили: ПГ I $\leq 10,1$ мкг/л и соотношение ПГ I/ПГ II $\leq 1,3$, гастрин-17 $\geq 42,4$ пмоль/л. В тест-системе «ГастроСкрин-3» соответствующие значения составили: ПГ I $\leq 16,8$ мкг/л и соотношение ПГ I/ПГ II $\leq 1,5$.

На основании полученных диагностических критериев определена частота АИГ в текущей клинической практике – 2,6 % и в случайной выборке жителей г. Новосибирска 45–69 лет – 1,6 %.

Установлено, что пациенты с АИГ, инфицированные *H. pylori* чаще имеют анемию, чем лица без *H. pylori* (65,7 % против 34,3 %, $p = 0,011$). При этом дефицит витамина B₁₂ чаще встречается у пациентов с «чистым» АИГ в сравнении с инфицированными *H. pylori* (65,8 % против 34,2 %, $p = 0,007$).

Впервые в России проведено исследование электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов у пациентов с АИГ. Результаты показали, что у данной группы наблюдается снижение среднего диаметра клеток и уменьшение доли дискоцитарных форм, в то время как количество сфероцитарных и деформированных эритроцитов возрастает. Кроме того, у пациентов с АИГ, инфицированных *H. pylori*, отмечены более низкие значения амплитуды деформации, емкости мембран, дипольного момента и скорости движения клеток к электродам по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0,001$).

Исследованы полиморфизмы генов *IL1B* (rs16944), *TNF* (rs1800629), *TCN2* (rs9606756), *BACH2* (rs3757247) при АИГ. Получены ассоциации генотипа GG гена *TNF* с дефицитом витамина B₁₂ (ОШ = 3,13; 95 % ДИ 1,11–8,82, $p = 0,042$).

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты проведенной работы продемонстрировали высокую инфицированность и влияние бактерии *H. pylori*, включая цитотоксический CagA+ штамм, на некоторые показатели при АИГ, что подчеркивает необходимость проведения эрадикационной терапии у данной категории пациентов.

Больше половины пациентов с АИГ имеют различные сопутствующие аутоиммунные заболевания, значимые ассоциации определены для аутоиммунного тиреоидита, что обосновывает необходимость проведения диагностического поиска данной патологии.

Пациенты с АИГ чаще имеют II (умеренную) стадию атрофии по системе OLGA. Стадии III–IV по OLGA свидетельствуют о предшествующей инфекции *H. pylori*, приводящей к антральным атрофическим поражениям и повышают риск развития рака желудка.

Показана высокая значимость маркеров атрофии в выявлении АИГ, в том числе с использованием отечественных тест-систем, что оптимизирует диагностику данного заболевания.

Установлены диагностические критерии для серологической диагностики аутоиммунного фенотипа атрофического фундального гастрита.

Включение серологических и генетических параметров с учетом вклада наследственности и *H. pylori*-инфекции позволяет не только выявлять АИГ до развития вторичных изменений, но и стратифицировать пациентов по риску развития рака желудка.

Положения, выносимые на защиту

1. Аутоиммунный гастрит характеризуется частой коморбидностью с *H. pylori*-инфекцией (включая цитотоксический CagA+ штамм), малосимптомным клиническим течением и ассоциацией с другими аутоиммунными заболеваниями, особенно с аутоиммунным тиреоидитом. У пациентов с аутоиммунным гастритом, инфицированных *H. pylori*, чаще выявляется анемия и реже дефицит витамина В₁₂ в сравнении с *H. pylori*-негативными пациентами.

2. У пациентов с аутоиммунным гастритом показатели биомаркеров в исследуемых тест-панелях («ГастроПанель» и «ГастроСкрин-3») различались, однако соответствовали серологическим критериям выраженной фундальной атрофии. С помощью рассчитанных диагностических критериев аутоиммунного фенотипа гастрита определена частота аутоиммунного гастрита в случайной выборке жителей г. Новосибирска 45–69 лет и в текущей клинической практике.

3. Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов отличаются у пациентов с аутоиммунным гастритом от здоровых лиц, а также в зависимости от наличия *H. pylori*-инфекции.

4. Установлены более высокие риски развития дефицита витамина В₁₂ среди носителей генотипа GG гена *TNF* и анемии при генотипе AG гена *TCN2*.

Степень достоверности и апробации результатов

Проведенное исследование включало 73 пациента с верифицированным диагнозом аутоиммунного гастрита. Представленная выборка репрезентативна для оценки всех изучаемых параметров.

Мощность выборки рассчитывалась по формуле: $N_{\min} = 15.4 * (p * (1-p)) / W^2$.

где p – ожидаемое значение вероятности случайного события;

W – ширина доверительного интервала для значения вероятности.

По данной формуле минимальный объем выборки пациентов составил 71 человек.

Достоверность результатов исследования определяется достаточным объемом выборки, использованием современных методов исследования, согласно международным стандартам качества, на сертифицированном оборудовании. Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением пакета программ IBM SPSS Statistics (версия 13.0). Выводы, сформулированные в работе, достаточно аргументированы и соответствуют поставленным задачам.

Первичная документация и материалы статистической обработки проверены и признаны достоверными. Результаты исследования опубликованы в реферируемых изданиях и не получили критических замечаний.

Апробация диссертационной работы проведена на расширенном семинаре с участием лабораторий гастроэнтерологии, молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, профилактической медицины, неотложной терапии, клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний, клинико-популяционных и профилактических исследований терапевтических заболеваний, психологических и социальных проблем терапевтических заболеваний Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН) (Новосибирск, 2024).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практику работы клиники НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН. Основные положения работы используются в учебном процессе учебного отдела НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН и на кафедре терапии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. По результатам диссертации написана и апробирована новая медицинская технология: «Особенности аутоиммунного гастрита, ассоциированного с *Helicobacter pylori*-инфекцией», 2022 год. По результатам диссертации зарегистрирована база данных пациентов с аутоиммунным гастритом («Биомаркеры аутоиммунного атрофического гастрита (БААГ)», свидетельство № 2022621874 от 29.07.2022).

Публикации результатов: По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 1 свидетельство о регистрации базы данных и 7 статей в научных журналах и изданиях, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 5 статей – в журналах категории К1, входящих в список изданий, распределенных по категориям К1, К2, К3, в том числе 5 статей в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Web of Science.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 124 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав материалов и методов, результатов исследования, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложения. Список литературы представлен 166 источниками, из которых 153 – в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 22 таблиц и 9 рисунков.

Личный вклад автора

Автор участвовал в разработке концепции, дизайна исследования, создании и ведении базы данных. Лично проводил набор пациентов с аутоиммунным гастритом, анализ и интерпретацию материалов исследования. Совместно с сотрудниками лаборатории клинических биохимических гормональных исследований терапевтических заболеваний выполнял биохимические исследования. Статистическая обработка данных произведена совместно с математиком НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН, ст. н. с. Л.В. Щербаковой. В соавторстве написаны и опубликованы печатные работы в журналах, рекомендованных Перечнем ВАК, в которых отражены научные результаты по теме диссертации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования – Одномоментное клиническое исследование (рисунок 1). Все пациенты заполняли и подписывали форму согласия на обработку персональных данных и информированное согласие на участие в исследовании.

В исследовании приняли участие 73 пациента с установленным диагнозом аутоиммунного фундального атрофического гастрита на основании серологических, эндоскопических и гистологических данных. Женщин оказалось подавляющее большинство – 66 человек (90,4%) со средним возрастом $55,1 \pm 12,9$ лет и 7 мужчин (9,6%) со средним возрастом $56,3 \pm 9,4$ лет. Все пациенты прошли обследование на базе клиники НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН. В зависимости от статуса *H. pylori* инфекции участники основной группы были разделены на две подгруппы.

В качестве группы контроля были отобраны 38 практически здоровых респондентов, проходивших профилактическое обследование в клинике НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН. Средний возраст исследуемых составил $54,7 \pm 10,9$ лет: 4 мужчины (10,5%) со средним возрастом $55,0 \pm 10,2$ лет и 34 женщины (89,5%) со средним возрастом $55,1 \pm 12,9$ лет. В группу сравнения вошли лица, ведущие здоровый образ жизни и употребляющие алкоголь не чаще 1-2-х раз в месяц в допустимых дозах (не более 10-20 г. в сутки в пересчете на чистый этанол), а также не имеющие онкологических, аутоиммунных заболеваний, анемии и инфекции *H. pylori* на момент исследования. Исключались также лица с историей оперативных вмешательств на органах желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), коморбидные и тяжелые пациенты с сопутствующей патологией, принимающие препараты, которые могли повлиять на результаты исследования (витамины, ингибиторы протонной помпы, гепатопротекторы, антибиотики, цитостатики, статины, антикоагулянты и дезагреганты). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

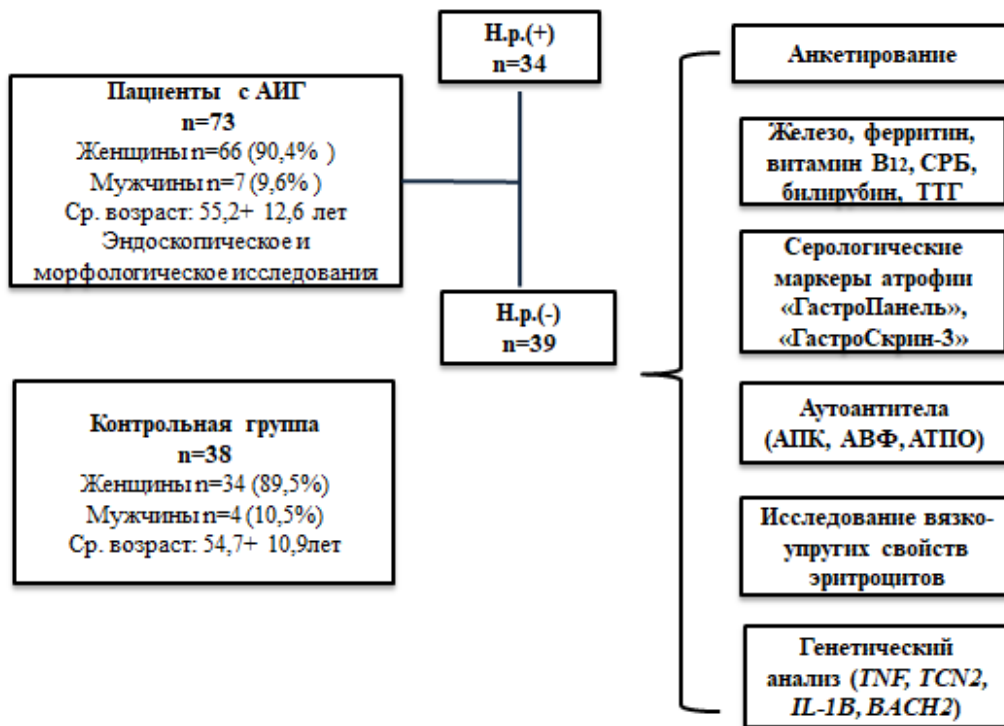


Рисунок 1 – Дизайн исследования 1 – «одномоментное клиническое исследование»: оценка клинических, лабораторных, генетических, морфологических данных у пациентов с АИГ и в контрольной группе

Также были проанализированы данные тест-системы «ГастроПанель» у 1 742 человек, обратившихся в поликлинику НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН самостоятельно или по направлению врача в период с 2007–2022 гг. Средний возраст исследуемых составил ($50,0 \pm 13,53$ года). И данные тест системы «ГастроСкрин-3» у 170 человек со средним возрастом $53,8 \pm 12,89$ лет за период с 2018–2022 гг. Также анализ проводился в группе 246 человек со средним возрастом $59,4 \pm 7,0$ лет (117 мужчин и 129 женщин), отобранных методом случайных чисел из базы международного проекта НАРИЕЕ (кросс-секционное одномоментное исследование, проведенное в период с 2003 по 2005 гг.).

На основании референсных значений, представленных производителем, оценивали фенотипы гастрита и возможные риски предраковых заболеваний, РЖ или эрозивно-язвенных повреждений слизистой оболочки желудка (СОЖ), а также частоту

аутоиммунного фенотипа гастрита по рассчитанным диагностическим критериям биомаркеров атрофии. Дизайн исследования представлен на рисунке 2.

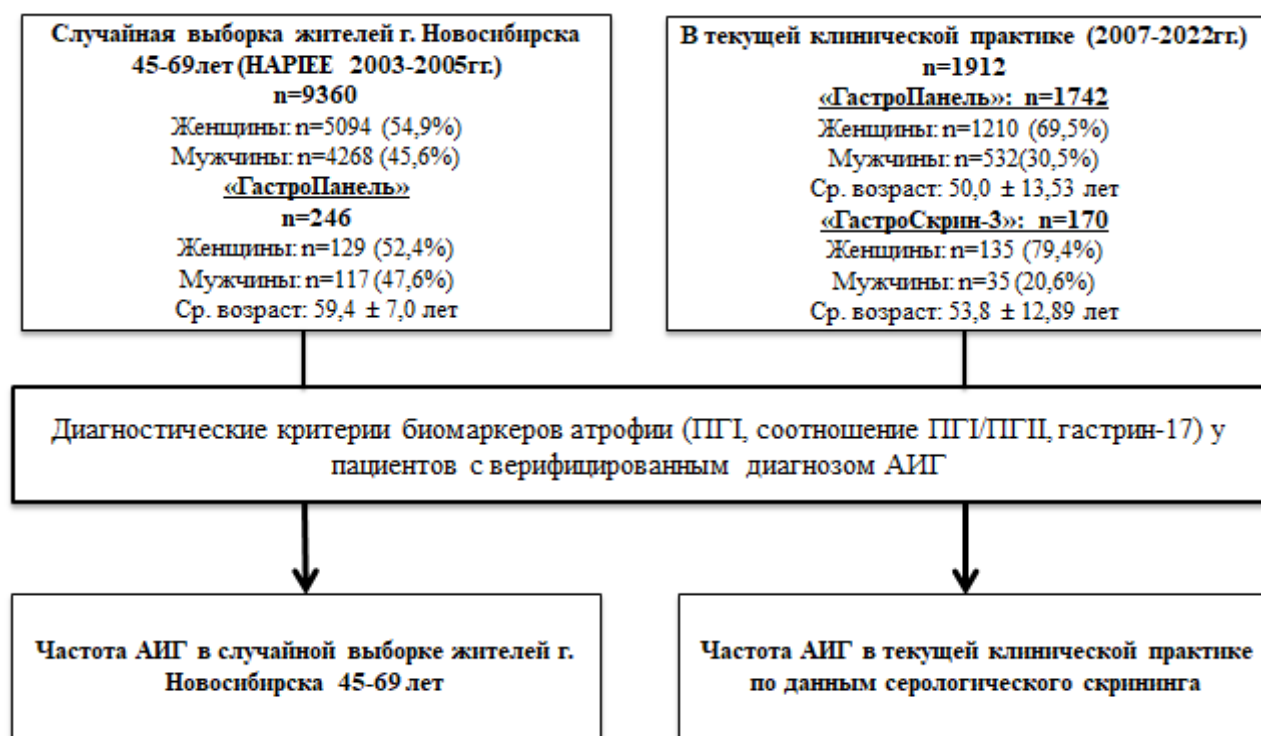


Рисунок 2 – Дизайн исследования 2: изучение частоты аутоиммунного атрофического гастрита у жителей г. Новосибирска по результатам серологического исследования в случайной выборке и в текущей клинической практике

Клинико-лабораторные и инструментальные методы

Все участники исследования прошли опрос на выявление гастроэнтерологических жалоб, вредных привычек, сопутствующих заболеваний, наследственности. Исследования крови проводились в лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний (зав. лабораторией д-р биол. наук, доц. Каштанова Е. В.) НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН.

Клинический анализ крови выполнен с использованием автоматического гематологического анализатора HTIMicroCC-20 Plus (HighTechnology, Inc, США). Анемию определяли при значениях гемоглобина (Hb) < 130 г/л у мужчин и < 120 г/л у женщин. Биохимическое исследование крови проводили для оценки показателей обмена железа (железо сыворотки (мкмоль/л), ферритин (мкг/л)), витамина В₁₂ (пг/мл). Для исключения гемолитической анемии и анемии хронического воспаления, были определены уровни общего билирубина (мкмоль/л) методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных наборов ELISA (Cloud-Clone Corp., USA) и С-реактивного белка (на ИФА анализаторе Multiscan EX). Дефицит железа регистрировали при содержании железа сыворотки крови < 9 ммоль/л, ферритина < 30 нг/мл [Национальное общество гематологов, Национальное общество детских гематологов и онкологов. Клинические рекомендации «Железодефицитная анемия» 2021-2022- 2023 (09.09.2021), Утверждены Минздравом РФ]. Дефицит витамина В₁₂ определяли при значении < 187 пг/мл. Антитела к париетальным клеткам желудка (АПК) и внутреннему фактору Касла (АВФ) определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом (ИФА) с использованием тест-наборов ELISA. Антитела к тиреопероксидазе (АТПО) определяли при помощи иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА).

У всех обследованных изучены электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП) с помощью электрооптической системы детекции клеток. Оценивали параметры: средний диаметр (м), доли, сфероциты, дискоциты, деформированные клетки (%), характер поверхности (усл. Ед.), поляризуемость клеток на разных частотах (мЗ), относительную поляризуемость (соотношение величины показателя на 106 Гц к 105 Гц), обобщенные показатели жесткости (Н/м), вязкости (Па × с), электропроводность мембран (См/м), индексы деструкции (на разных частотах диапазона), (%) и агрегации (усл. Ед.), степень и амплитуду деформации эритроцитов на частотах 5×10^5 Гц (%) и 106 Гц (м), емкость мембран эритроцитов (Ф), скорость движения клеток к электродам (мкм/с), положение равновесной частоты (Гц), величину дипольного момента (Кл.м). Для обработки данных использовали пакет программ CELLFIND. Ошибка воспроизводимости метода составила 7–12 %.

Функциональное состояние СОЖ оценивали с помощью набора диагностикумов «ГастроПанель» компании Biohit Plc (Хельсинки, Финляндия) и тест-набора «ГастроСкрин-3» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск). Значение ППГ – 160 мкг/л считали верхней границей нормы, а уровень ППГ ≤ 30 мкг/л и (или) соотношения ППГ/ППГII – ≤ 3 свидетельствовали о выраженной атрофии тела желудка. Диапазон ППГ 31–50 мкг/л оценивали, как умеренную корпусную атрофию. Мультифокальный атрофический гастрит (пангастрит) определяли при снижении ППГ ≤ 30 и гастрин-17 менее 1 пмоль/л. Уровень IgG антител к *H. pylori* считали диагностически значимым – при значении более 42 ЕИУ. Дополнительно изучали наличие антител к CagA-белку *H. pylori* – цитотоксическому штамму с помощью тест-системы «Хелико-Бест антитела» (ЗАО Вектор-Бест, Новосибирск). Статус *H. pylori* инфекции определялся как минимум двумя стандартизированными диагностическими тестами: обнаружением бактерии в биопсийном материале желудка, одностадийным иммунохроматографическим методом выявления специфических антигенов *H. pylori* в образцах кала, ^{13}C -уреазным дыхательным тестом, быстрым уреазным тестом или определением уровня антител класса IgG к *H. pylori* («ГастроПанель»), а также оценивались анамнестические данные и протоколы эрадикации.

Эндоскопическое исследование выполнялось на оборудовании Pentax (ЕРК-і7010). Забор биопсии производили по Сиднейскому протоколу (2 фрагмента большой и малой кривизны тела желудка, 2 фрагмента из большой и малой кривизны антрального отдела, один фрагмент из угла желудка) с последующей оценкой биоптатов по системе OLGA [Rugge M. et al., 2008]. Все 5 биоптатов помещались отдельно в маркированные контейнеры. Исследование проводилось в кабинете эндоскопии НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН врачом эндоскопистом, имеющим необходимый опыт и квалификацию (врач высшей квалификационной категории Тонконогий М. В.). Гистологическое исследование проводилось на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, зав. кафедрой, д-р мед. наук, профессор Надеев А. П.

Методы молекулярно-генетического анализа

Выделение ДНК и генотипирование полиморфизмов генов выполнено в лаборатории молекулярно-генетических исследований НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (заведующий лабораторией д.м.н., профессор Максимов В. Н.). ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование проведено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Для генотипирования rs16944 гена *IL-1B*(-511) использовали праймеры: 5'- TGGCA-TTGAT-CTGGT-TCATC -3'(F) и 5'- GTTTA-GGAAT-CTTCC-3'(R). Амплификацию

проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95°C 30с., отжиг праймеров 56°C 30с. и элонгацию 72°C 30с. Рестрикцию проводили с 5 ед. рестриктазы *Ama87I* («СибЭнзим», Новосибирск) с сайтом распознавания C↑YCGRG GRGCU↓C при 37°C в течение 16 ч. Детекцию продуктов амплификации и рестрикции осуществляли методом электрофореза в 4% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием. После проведения рестрикции при генотипе TT детектировался продукт 304 п.н. При генотипе CC – продукт 190 п.н. и 114 п.н., при гетерозиготном генотипе TC – продукты 304 п.н., 190 п.н. и 114 п.н. Полиморфизм промоторного региона гена *IL1B* исследовался в позиции -511T/C (rs16944) по методике (ПЦР с ПДРФ).

Генотипирование G308A в промоторе гена фактора некроза опухоли *TNF* проводился с помощью ПЦР с последующей рестрикцией продукта эндонуклеазой рестрикции *Bsp19I* («СибЭнзим», г. Новосибирск). Структура праймеров: 5'- AGGCA-ATAGG-TTTTG-AGGGC-CAT -3' - прямой праймер; 5'- TCCTC-CCTGC-TCCGA-TCCCG -3' - обратный праймер. Условия ПЦР (31 цикл): денатурация 30 сек при 95°C; отжиг 30 сек при 60°C; синтез 30 сек при 72°C. Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 1,5 мкл тотальной ДНК; 75 mM Tris-HCl, pH=9,0; 20 mM (NH₄)₂SO₄; 0,01% Tween-20; по 1 мкМ каждого праймера; 2,5 mM MgCl₂; 0,2 mM каждого из dNTP; 0,6 ед. акт. Taq-ДНК-полимеразы. Рестрикцию осуществляли в стандартных условиях с 15 ед. акт. рестриктазы *Bsp19I* при 37°C в течение 12 часов. Результаты рестрикции анализировали электрофорезом в 4% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и сканированием в УФ свете. В норме в амплифицируемом участке ДНК имеется сайт рестрикции, в результате чего от продукта амплификации размером 107 п.н. отрезается фрагмент 20 п.н. В случае частой гомозиготы (генотип GG) образуется два фрагмента длиной 87 и 20 п.н. При наличии ОНП –G308A продукт амплификации не разрезается. Мутантная гомозигота (генотип AA) характеризуется одним фрагментом длиной 107 п.н., а гетерозигота (генотип AG) – тремя фрагментами: 107 п.н., 87 п.н., 20 п.н.

Для генотипирования rs9606756 (*TCN2*) проводили с помощью ПЦР с ПДРФ. Структура праймеров: 5'- TCTGG-AGAAG-GCCCT-GGTA -3' - прямой праймер; 5'- CCACA-TAGAT-GCTGG-GGT -3' - обратный праймер. Условия ПЦР (31 цикл): денатурация 30 сек при 95°C; отжиг 30 сек при 58°C; синтез 30 сек при 72°C. Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 1,5 мкл тотальной ДНК; 75 mM Tris-HCl, pH=9,0; 20 mM (NH₄)₂SO₄; 0,01% Tween-20; по 1 мкМ каждого праймера; 2,5 mM MgCl₂; 0,2 mM каждого из dNTP; 0,6 ед. акт. Taq-ДНК-полимеразы. Рестрикцию осуществляли в стандартных условиях с 10 ед. акт. рестриктазы *RsaI* при 37°C в течение 16 часов. Результаты рестрикции анализировали электрофорезом в 4% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и сканированием в УФ свете. В норме в амплифицируемом участке ДНК размером 191 п.н. имеется сайт рестрикции, поэтому генотипу AA соответствуют два фрагмента длиной 68 и 123 п.н. Генотипу GG соответствуют три фрагмента 101, 68, 22 п.н. Гетерозиготному генотипу соответствуют фрагменты 123, 101, 68, 22 п.н.

Генотипирование rs3757247 (*BACH2*) проводили с помощью ПЦР с ПДРФ. Структура праймеров: 5'- ATGGG-TTCAA-CTTTG-ACAGC-TG -3' - прямой праймер; 5'- ATCAT-CCACC-STATG-CTTCA-GTT -3' - обратный праймер. Условия ПЦР (31 цикл): денатурация 30 сек при 95°C; отжиг 30 сек при 62°C; синтез 30 сек при 72°C. Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 1,5 мкл тотальной ДНК; 75 mM Tris-HCl, pH=9,0; 20 mM (NH₄)₂SO₄; 0,01% Tween-20; по 1 мкМ каждого праймера; 2,5 mM MgCl₂; 0,2 mM каждого из dNTP; 0,6 ед. акт. Taq-ДНК-полимеразы. Рестрикцию осуществляли в стандартных условиях с 10 ед. акт. рестриктазы *MboII* при 37°C в течение 16 часов. Результаты

рестрикции анализировали электрофорезом в 4% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и сканированием в УФ свете. Генотипу AA соответствует фрагмент длиной 138 п.н., генотипу GG соответствуют два фрагмента 88 и 50 п.н. Гетерозиготному генотипу соответствуют фрагменты 138, 88, 50 п.н.

Статистическая обработка

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием программ IBM SPSS Statistics (версия 13.0). Характер распределения количественных признаков определяли методом Колмогорова – Смирнова. При сравнении двух нормально распределенных выборок использовался t-тест Стьюдента. При отсутствии нормального распределения вычислялись медиана (Me), 25 и 75 % процентиля (25%; 75%) (Me (25%; 75%)) достоверность различия показателей оценивали с помощью непараметрических критериев (U-критерий Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса). Оценку соответствия частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга проводили с использованием критерия χ^2 . Для оценки статистической значимости различий относительных показателей использован критерий χ^2 Пирсона. В случае четырёхпольных таблиц применяли точный двусторонний критерий Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0,05. Связи между признаками оценивались вычислением коэффициента линейной корреляции Пирсона, для интервальных и порядковых переменных, не подчиняющихся нормальному распределению, ранговым коэффициентом корреляции Спирмана. Для оценки шансов аутоиммунного гастрита был проведен логистический регрессионный анализ. Результаты представлены в виде отношения шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Все группы были сопоставимы по полу и возрасту. При разделении пациентов по статусу инфекции *H. pylori*, 46,6% оказались инфицированными, причем цитотоксический CagA+ штамм определялся в 53% случаев (18 человек). В ранее проведенных эпидемиологических исследованиях в Сибири, распространенность *H. pylori*, оцениваемая с помощью серологической диагностики, составила более 80% [Курилович С. А. и соавт., 2000]. Роль *H. pylori* в патогенезе АИГ до сих пор обсуждается, но есть некоторые свидетельства того, что у части пациентов *H. pylori* может запускать аутоиммунный процесс, приводящий к атрофии СОЖ («вторичный» АИГ) [Allakky A. et al, 2023].

Мы не обнаружили специфических гастроэнтерологических жалоб, отличающих пациентов с АИГ от контрольной группы. Такое течение заболевания согласуется с рядом других исследований [Carabotti M. et al, 2017, Weise F. et al, 2020].

Отягощенную наследственность по злокачественным новообразованиям (ЗНО) имели 45 пациентов (61,6%): у 13 человек в семье были случаи рака желудка (17,8%), а 32 пациента (43,8%) сообщили о родственниках с ЗНО других локализаций. У 5 человек (6,8%) выявлена отягощенная наследственность по аутоиммунным заболеваниям (1 случай аутоиммунного гастрита) (рисунок 3).

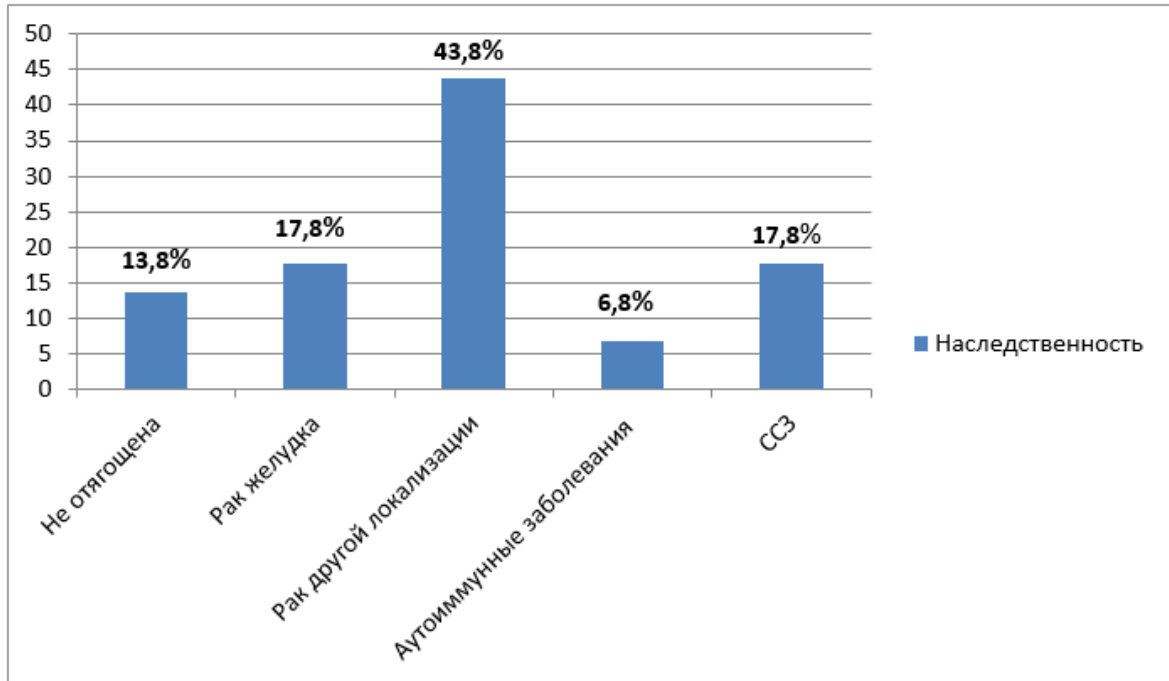


Рисунок 3 – Анализ родословной у пациентов с АИГ (%)

В настоящем исследовании аутоиммунный тиреоидит (АИТ) был выявлен в 56,2% случаев и это превышает данные предыдущих исследований (рисунок 4). Например, К. Rodriguez-Castro с соавт. обнаружили АИТ у 40% пациентов с АИГ [Kryssia I. R. C. et al 2018] а Ç. Kalkan с соавт. у 36,2% пациентов [Kalkan Ç. et al, 2016].

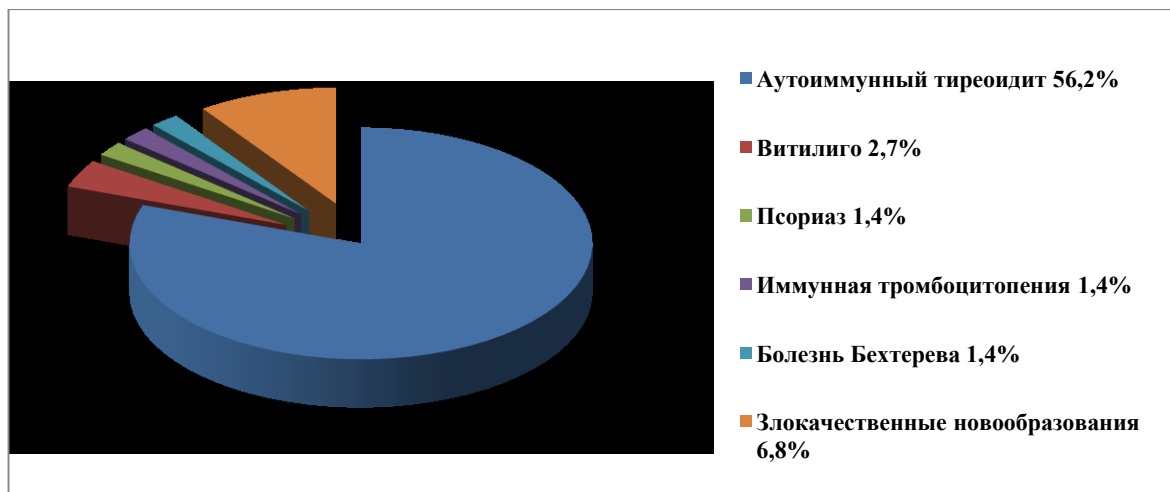


Рисунок 4 – Сопутствующие заболевания у пациентов с АИГ (%)

Лабораторные исследования

У пациентов с АИГ в 47,9% случаев (35 человек) выявлена анемия различного генеза и степени тяжести. У пациентов с АИГ, инфицированных *H. pylori*, железodefицитная анемия (ЖДА) встречалась чаще, чем в группе «чистого» АИГ (65,7% против 34,3%, $p = 0,011$). Механизм развития ЖДА на фоне *H. pylori* инфекции может быть обусловлен как развитием атрофии и нарушением всасывания железа, так и влиянием факторов вирулентности самой бактерии [Mărginean C. D. et al, 2022].

Дефицит витамина В₁₂ чаще встречался у пациентов с АИГ *H. pylori*-негативных в отличие от *H. pylori*-инфицированных (65,8% против 34,2%, $p = 0,007$) таблица 1. Дефицит витамина В₁₂ развивается медленнее и это связано с его запасами в организме человека [Pilotto V. et al, 2021]. Однако в нашей работе более половины пациентов с АИГ имели дефицит витамина В₁₂, что больше по сравнению с работами зарубежных авторов [Osmola M. et al, 2024, Zilli A. et al, 2019] (таблица 1).

Таблица 1 – Анемия, дефицит железа и витамина В₁₂ у пациентов с АИГ в зависимости от *H. pylori* инфекции

Параметр	АИГ общая группа n = 73	АИГ Н.р (+) n = 34 (1)	АИГ Н.р (-) n = 39 (2)	P ₁₋₂
Анемия	35 (47,9)	23 (65,7)	12 (34,3)	0,011
Дефицит железа n (%)	64 (87,7)	29 (45,3)	35 (54,7)	0,564
Дефицит витамина В ₁₂ n (%)	38 (52,1)	13 (34,2)	25 (65,8)	0,007

В настоящей работе АПК определялись у большинства пациентов с АИГ (86,3%), АВФ гораздо реже – в 12,3% случаев. Наиболее чувствительным является анализ на АПК. Однако их отсутствие может встречаться у пожилых людей, что не исключает АИГ [Conti L. et al, 2020]. Антитела к внутреннему фактору (АВФ), наоборот, обладают большей специфичностью и меньшей чувствительностью, и чаще определяются у пациентов с пернициозной анемией [Conti L. et al, 2020]. Так, в настоящем исследовании, дефицит витамина В₁₂ был диагностирован у всех пациентов с АВФ, что значимо чаще в сравнении с пациентами с АПК (88,9% против 38,1%, $p = 0,005$).

В сравнении с контрольной группой получены ожидаемые различия в лабораторных показателях. Медианы гемоглобина, ферритина и витамина В₁₂ оказались ниже у пациентов с АИГ, чем в контроле ($p < 0,001$). Однако показатели железа сыворотки крови как в контроле, так и в основной группе значимо не различались. В сравниваемых группах не определялось повышение значений общего билирубина, СРБ, ферритина, СОЭ, что позволяет с большой вероятностью исключить другие причины анемии (гемолитическую, анемию воспалительных заболеваний). Лабораторные показатели в исследуемых группах представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Лабораторные показатели в исследуемых группах, Ме [25%; 75%]

Показатели	АИГ Н.р. (-), n = 39 (1)	АИГ Н.р. (+), n = 34 (2)	Группа контроля n = 38 (3)	р	Показатели	АИГ общая группа n = 73 (1)	АИГ Н.р. (-), n = 39 (2)	АИГ Н.р. (+), n = 34 (3)	Группа контроля n = 38 (4)	р
Нб, г/л	116 [109; 125]	121 [118; 129,5]	128 [120; 136]	$p_{1-3} < 0,051$ $p_{1-2} < 0,067$	В ₁₂ , пмоль/л	183 [132; 241]	164,5 [118,5; 193]	210 [166,5; 254]	259 [150; 390]	$p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,007$
MCV, фл	84,9 [81,2; 91,6]	83,6 [79,8; 87,5]	86,8 [83,5; 88,7]	$p > 0,05$	АПК, титр	640 [160; 2560]	640 [116; 2560]	640 [240; 1280]	25,2 [10,5; 30,8]	$p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$
МСН, пг	28,3 [25,9; 30,4]	27,3 [25,6; 28,7]	32,9 [30,5; 34,8]	$p > 0,05$	АВФ, отн. ед./мл	1,2 [0,3; 3,5]	0,95 [0,3; 4,00]	1,6 [0,35; 3,2]	0,72 [0,4; 2,7]	$p > 0,05$
Fe, мкмоль/л	10 [5,57; 15]	10,7 [8,01; 13,2]	13 [10; 17]	$p > 0,05$	ТТГ, мМЕ/л	3,68 [2,37; 5,17]	3,59 [2,2; 5,2]	3,7 [2,5; 5,22]	2,62 [2,1; 4,2]	$p > 0,05$
Ферритин, мкг/л	12,5 [6,75; 20,83]	18 [9; 25,5]	42,3 [33,15; 60,83]	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,784$	АТПО, МЕ/мл	110 [17; 300]	122,8 [12,6; 429,1]	100 [22,5; 235]	23,7 [13,5; 30,7]	$p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$

Примечание: АИГ – аутоиммунный гастрит; Н.р. (+) – бактерия *Helicobacter pylori*; Н.р. (-) – отсутствие бактерии *Helicobacter pylori*; Нб – гемоглобин; MCV – средний объем эритроцита; МСН – среднее содержание гемоглобина в эритроците; Fe – железо сыворотки; В₁₂ – витамин В₁₂; АПК – антитела к париетальным клеткам; АВФ – антитела к внутреннему фактору; ТТГ – тиреотропный гормон; АТПО – антитела к тиреопероксидазе.

Серологические и морфологические маркеры атрофии

При АИГ характерно развитие изолированной атрофии проксимальных отделов желудка (тело и дно) и компенсаторная гипергастринемия, что не наблюдается в здоровой слизистой и при *H. pylori*-ассоциированном гастрите. В нашем исследовании у пациентов с АИГ в анализе «ГастроПанель» медиана ПГИ составила 10,1 [5,1; 21,6] мкг/л, ПГII - 8,1 [5,6; 10,4] мкг/л, соотношения ПГИ/ПГII 1,3 [0,8; 2,1], гастрин-17 - 42,4 [39,3; 47,1] пмоль/л. Медианы показателей тест системы «ГастроСкрин-3» также были ниже референсных значений: ПГИ 16,8 [9,8; 26,5] мкг/л, ПГII 11,0 [7,5; 14,3] мкг/л и соотношения ПГИ/ПГII – 1,5 [1,1; 2,3]. Значения ПГИ и соотношения ПГИ/ПГII были достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,0001$), при этом гастрин-17 оказался значимо выше в группе пациентов с АИГ ($p < 0,0001$). Полученные данные отражают закономерные изменения и подчеркивают возможность применения серологической панели в ранней диагностике данного заболевания.

При сравнении показателей биомаркеров двух тест-систем, медианы ПГИ и соотношения ПГИ/ПГII панели «ГастроСкрин-3» у пациентов с АИГ оказались значимо выше, чем показатели тест системы «ГастроПанель», но также соответствовали критериям выраженной фундальной атрофии (рисунок 5).

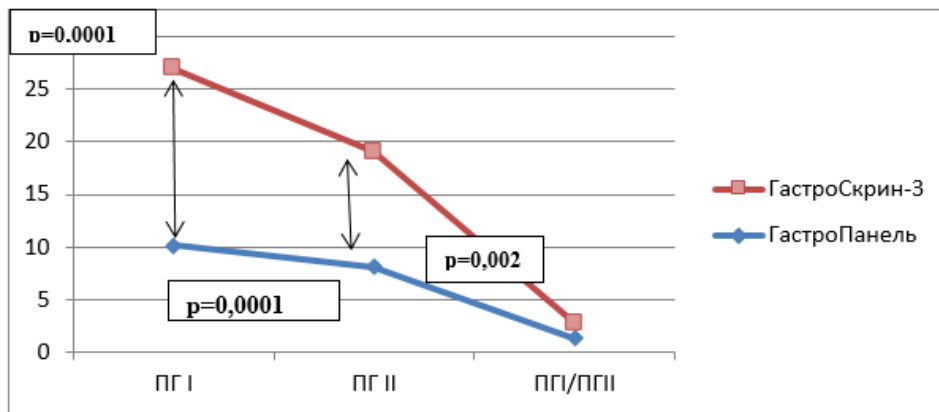


Рисунок 5 – Сравнение показателей биомаркеров тест-систем «ГастроПанель» и «ГастроСкрин-3» у пациентов с АИГ Me [25%; 75%]

На основании серологических показателей «ГастроПанель» у пациентов с АИГ рассчитаны диагностические критерии: для ПГИ – $\leq 10,1$ мкг/л, для соотношения ПГИ/ПГII – $\leq 1,3$ и для гастрин-17 – $\geq 42,4$ пмоль/л. Для «ГастроСкрин-3»: ПГИ $\leq 16,8$ мкг/л, а для соотношения ПГИ/ПГII $\leq 1,5$.

Полученные данные были использованы в качестве пороговых значений для расчета частоты аутоиммунного фенотипа гастрита в текущей клинической практике (пациенты, обращающиеся в лабораторию НИИТПМ) и в случайной выборке жителей г. Новосибирска (проект НАРИЕЕ). Из 1742 человек, прошедших диагностику «ГастроПанель» за 15 лет признаки аутоиммунного фенотипа гастрита выявлены в 2,6% случаев. Для «ГастроСкрин-3» (170 человек) частота АИГ составила 3,5%, а в случайной выборке 45-69 (246 человек) 1,6% обследованных имели серологические признаки АИГ, что соотносится с результатами других исследований [Bakulina N. et al, 2022, 4. Notsu T. et al, 2019]. По данным серологического скрининга 1283 здоровых добровольцев из Санкт-Петербурга, проведенного с помощью тест системы «ГастроПанель», частота АИГ составила 2,6% [Bakulina N. et al, 2022].

По результатам лабораторных показателей был проведен корреляционный анализ, который продемонстрировал ассоциации показателей ПГИ в двух использованных тест системах («ГастроПанель» и «ГастроСкрин-3») и соотношение ПГИ/ПГИ («ГастроПанель») с уровнем ферритина в сыворотке крови ($r = 0,289^*$, $p = 0,013$). Положительная корреляционная связь получена между уровнем ПГИ («ГастроСкрин-3») и значениями витамина В₁₂ ($r = 0,313^{**}$, $p = 0,007$), гемоглобина ($r = 0,277^{**}$, $p = 0,018$) и титром АПК ($r = 0,248^*$, $p = 0,034$). В нашем исследовании уровень АПК ассоциирован с большими значениями витамина В₁₂ ($r = 0,232^{**}$, $p = 0,049$) и меньшими значениями АВФ ($r = 0,326^{**}$, $p = 0,005$).

Исследуемые показатели при АИГ были включены в Модель логистического регрессионного анализа в качестве независимых переменных, а наличие АИГ – в качестве зависимой переменной (Таблица 3).

Таблица 3 – Логистический регрессионный анализ относительного шанса АИГ

Показатели	Модель 1	Модель 2
	ОШ (95 % ДИ), p	
Возраст	—	1,041 (0,920–1,178) p = 0,525
Пол (муж/жен)	—	0,001 (0,001–1,022) p = 0,071
Ферритин (на 1)	1,112 (1,041–1187) p = 0,002	0,874 (0,789–0,968) p = 0,010
ПГИ/ПГИ (на 1)	0,453 (0,327–0,628) p = 0,001	0,476 (0,283–0,801) p = 0,005
Витамин В ₁₂ (на 1)	0,981 (0,974–0,988) p = 0,001	0,987 (0,975–0,999) p = 0,036
Гастрин-17 (на 1)	1,466 (1,177–1,825) p = 0,001	—
CagA (есть/нет)	0,786 (0,323–1,917) p = 0,597	0,198 (0,009–4,507) p = 0,310

Результаты показали, что шанс АИГ возрастает при снижении ферритина (ОШ 0,874; 95 % ДИ 0,789–0,968, $p = 0,010$), витамина В₁₂ (ОШ 0,987; 95 % ДИ 0,975–0,999, $p = 0,036$) и соотношения ПГИ/ПГИ (ОШ 0,476; 95 % ДИ 0,283–0,801, $p = 0,005$) на 1. При проведении пошагового регрессионного анализа наиболее значимым оказался показатель соотношения ПГИ/ПГИ.

Серологические тесты должны подкрепляться гистологическим исследованием биоптатов из разных отделов желудка. Практически у всех пациентов с АИГ были обнаружены атрофические изменения (98,6%). По интегральной оценке, стадии атрофии, согласно системе OLGA, преобладала умеренная атрофия (II стадия) - 82,2% случаев, 11% случаев соответствовали III-IV стадии (высокий риск рака желудка). По данным

исследований III–IV стадии убедительно свидетельствуют о тяжелой атрофии и, как правило, коморбидности с *H. pylori* инфекцией. По некоторым оценкам у этих пациентов с АИГ риск неоплазии желудка колеблется от 6,3% до 25% [Esposito G. et al, 2021].

Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов у пациентов с АИГ

Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов выявило снижение амплитуды деформации клеток красной крови на высоких частотах электрического поля ($p < 0,0001$) по сравнению с группой контроля. А также снижение ёмкости клеточных мембран ($p < 0,0001$). В группе пациентов с АИГ Н.р.(+) ёмкость была достоверно ниже, чем в группе с АИГ Н.р.(-) ($p = 0,004$). Данные изменения могут быть связаны с большим уровнем иммуноглобулинов, иммунных комплексов, адсорбция которых на мембранах клеток независимо от антигенной природы, приводит к более выраженному снижению ёмкости мембран эритроцитов [Новицкий В. В. и соавт., 2004].

У пациентов с АИГ выявлено также значительное снижение отрицательного поверхностного заряда клеток. Скорость движения эритроцитов к электродам и величина дипольного момента были ниже в группе пациентов с АИГ Н.р.(+) по сравнению с группой АИГ Н.р.(-) и ($p = 0,019$ и $p < 0,001$). Возможно, уровень «экранирования» отрицательных зарядов на поверхности мембран эритроцитов более выражен при сочетании АИГ и инфекции *H. pylori*, поскольку уровень антигенной нагрузки возрастает [Bergman M. P. et al, 2005]. Снижение поверхностного заряда эритроцитов связано с повышенным образованием агрегатов, в связи с чем, повышенный индекс агрегации у пациентов с АИГ закономерен ($p = 0,002$). Электропроводимость эритроцитов у пациентов с АИГ была значимо выше, чем в контроле ($p < 0,001$). Данный результат косвенно отражает изменения в структуре мембран эритроцитов, в том числе, соотношения фракций фосфолипидов, эфиров холестерина, уровней жирных кислот, активности мембраносвязанных вискозизависимых ферментов, что согласуется с данными литературы [Kovacheva-Slavova M. D. et al, 2019]. Клетки пациентов в основной группе были склонны к гемолизу на различных частотах электрического поля. Индекс деструкции эритроцитов оказался выше при АИГ на частотах $0,5 \times 10^6$, $0,1 \times 10^6$, $0,05 \times 10^6$ Гц, чем в контрольной группе ($p < 0,001$ – $0,054$), что может быть обусловлено снижением резистентности клеток красной крови. Поляризуемость эритроцитов на высоких частотах 10^6 и $0,5 \times 10^6$ Гц оказалась достоверно ниже ($p = 0,001$), а на низкой частоте $0,1 \times 10^6$ Гц – выше у пациентов с АИГ, чем у здоровых лиц ($p = 0,009$ – $0,015$). Отклонения параметров поляризуемости косвенно свидетельствуют о нарушении этапов созревания клеток красной крови при АИГ [Генералов В. и соавт. 2022].

Проведенный ROC-анализ показал возможность точного различения пациентов с АИГ и Н.р. (-) от АИГ Н.р. (+) (рисунок 6).

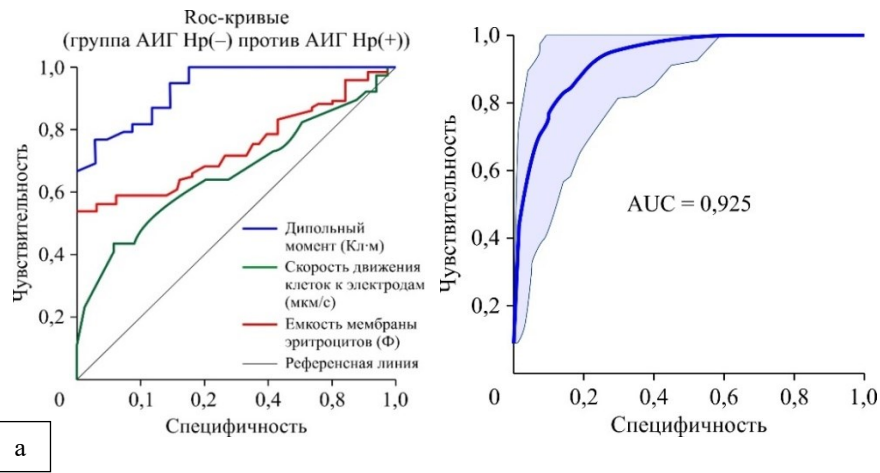


Рисунок 6. а) ROC-кривые при проведении различия пациентов с АИГ, Н.р. (-) от группы АИГ, Н.р. (+). а) дипольный момент - AUC 0,934, чувствительность 79,5%, специфичность 88%; емкость мембран - AUC 0,696, чувствительность 61,5%, специфичность 58,8%; скорость движения клеток к электродам - AUC 0,660, чувствительность 64,1%, специфичность 88,2%; б) ROC-кривая комплексной модели, включающей уровни дипольного момента, скорости движения клеток к электродам, емкости клеточной мембраны, для различия пациентов АИГ, Н.р. (+) и АИГ, Н.р. (-) - AUC 0,925, чувствительность 92,4%, специфичность 89,7%

Возможности различения пациентов с аутоиммунным гастритом от здоровых лиц на основании уровней электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов при применении непарной статистики модифицированным методом главных компонент (ortho-PLS-DA) представлены на Рисунке 7. Кроме пересекающейся области, отражающей совпадающие по уровню параметры эритроцитов, отчетливо видны отличающиеся характеристики.

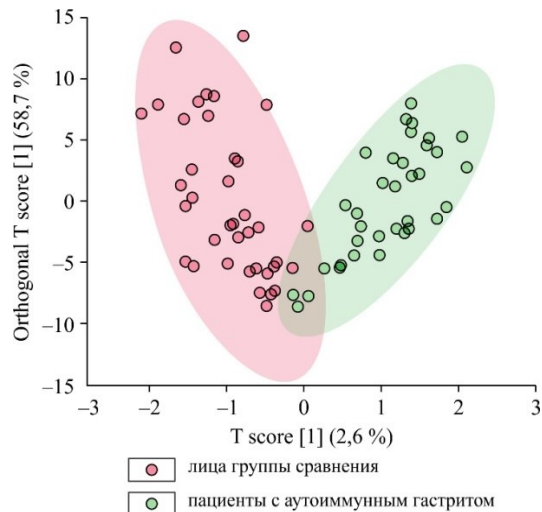


Рисунок 7 – Метод ortho-PLS-DA в различении пациентов с аутоиммунным гастритом (зеленое облако) от здоровых лиц (розовое облако) на основании уровней электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов (непарная статистика)

Анализ однонуклеотидных полиморфизмов

Генетический анализ кандидатных генов продемонстрировал ассоциации генотипа CC гена *IL-1B* (-511) rs16944 с более высокими значениями гастрин-17 ($\geq 42,4$ пмоль/л) (ОШ 4,13; 95 % ДИ 1,29–13,21, $p = 0,017$). Ассоциации сохранялись у пациентов с *H. pylori* инфекцией, (ОШ 3,4; 95 % ДИ 1,0–11,0, $p = 0,031$). Уровень гастрин-17 увеличивается пропорционально прогрессированию атрофии париетальных клеток. Можно предположить, что тяжелая атрофия, вызванная *H. pylori* при АИГ ассоциирована с *IL-1B*. Это предположение подтверждается исследованием Т. Furuta с соавт., которое заключает, что экспрессия гена *IL-1B* увеличивается у пациентов с более тяжелым фундальным атрофическим гастритом при наличии *H. pylori* инфекции [Furuta T. et al, 2002]. *TNF* был выбран для изучения ввиду его связи с тяжестью атрофии и участием в иммунных реакциях при АИГ по данным исследований [Guo X. F. et al, 2013, 117.

Yang J. P. et al, 2014]. В нашем исследовании генотип GG гена *TNF* был ассоциирован с 3-кратным увеличением риска развития дефицита витамина B₁₂ в основной группе (ОШ 3,16; 95 % ДИ 1,11–8,82, $p = 0,042$). Подобные результаты в литературе не представлены. При этом хорошо изучена роль фактора некроза опухоли в индукции и поддержании воспаления, в том числе иммунного [Lenti M. V. et al, 2022].

Полиморфизм rs9606756 AG гена *TCN2* у пациентов с АИГ показал ассоциации с развитием анемии (ОШ 5,89; 95 % ДИ 1,17–29,59, $p = 0,024$). Ген *TCN2* кодирует белки-переносчики витамина B₁₂, что вполне может объяснять полученный результат. Исследования по изучению данного полиморфизма при АИГ весьма ограничены. E. Lahner с соавт. обнаружили ассоциации генотипа GG с АИГ и ПА ($p = 0,02$) [Lahner E. et al, 2015].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

АИГ по-прежнему диагностируется на поздних стадиях. В последних исследованиях предпринимаются попытки выделить маркеры, обладающие потенциальной ценностью не только в отношении ранней диагностики АИГ, но и в отношении тяжести его течения и осложнений. В результате проведенного исследования было показано, что пациенты с АИГ в Западной Сибири часто инфицированы *H. pylori* (47%), включая его онкогенный CagA+ штамм. У пациентов с АИГ часто развивается дефицит железа и витамина B₁₂, причем первый может быть потенцирован бактерией *H. pylori*.

Для АИГ характерно малосимптомное течение, поэтому важно выявлять АИГ на доклинических стадиях, до развития дефицитов, анемии и рака желудка. Высокую диагностическую ценность продемонстрировали серологические биомаркеры атрофии, такие как ПГ1, соотношение ПГ1/ПГ2 и гастрин-17. Были установлены диагностические критерии биомаркеров, для более точного выявления аутоиммунного фенотипа гастрита. На основании рассчитанных значений частота АИГ в клинической группе составила 2,6% («ГастроПанель») и 3,5% по («ГастроСкрин-3»), а в случайной выборке жителей г. Новосибирска - 1,6% («ГастроПанель»), что согласуется с общемировыми данными.

Кроме того, генетические факторы также могут оказывать влияние на АИГ. Например, полиморфизмы генов, кодирующих белки, связанных с иммунным ответом и регуляцией воспаления, могут повышать риск развития анемии и дефицита витамина B₁₂ при АИГ.

Хотя данное исследование ограничено размером выборки и является пилотным, полученные данные могут послужить основой для более глубокого изучения АИГ и механизмов его развития. Подобные исследования могут помочь улучшить диагностику, прогнозирование течения заболевания и разработку новых методов лечения данного патологического процесса.

ВЫВОДЫ

1. Показано малосимптомное или асимптомное клиническое течение аутоиммунного гастрита (85 %) у пациентов в Западной Сибири с сопутствующим аутоиммунным тиреоидитом в 56,2 % случаев.

2. Выявлена высокая частота *Helicobacter pylori*-инфекции у пациентов с аутоиммунным гастритом (47 %), включая цитотоксический CagA+ штамм в половине случаев (53,0 %). Инфицированные пациенты больше подвержены риску развития анемии (47,9 %), преимущественно связанной с дефицитом железа и менее с дефицитом витамина В₁₂ (94,3 % против, 52,1 %, $p < 0,05$).

3. Наиболее значимыми для дифференцирования пациентов с АИГ в зависимости от статуса *Helicobacter pylori* оказались: величина дипольного момента (AUC 0,934, чувствительность 79,5%, специфичность 88%); емкость мембран эритроцитов (AUC 0,696, чувствительность 61,5%, специфичность 58,8%); скорость движения клеток к электродам – (AUC 0,660, чувствительность 64,1%, специфичность 88,2%).

4. Наиболее значимым маркером для ранней диагностики аутоиммунного гастрита у пациентов Западной Сибири является соотношение ПГИ/ПГII (ОШ 0,476; 95 % ДИ 0,283–0,801, $p = 0,005$). Диагностически ценными для серологического выявления аутоиммунного гастрита являются рассчитанные диагностические критерии биомаркеров атрофии двух тест-систем: «ГастроПанель» (ПГИ $\leq 10,1$ мкг/л, ПГИ/ПГII $\leq 1,3$ Гастрин-17 $\geq 42,4$ пмоль/л) и «ГастроСкрин-3» (ПГИ $\leq 16,8$ мкг/л и соотношение ПГИ/ПГII $\leq 1,5$).

5. Частота аутоиммунного фенотипа атрофического фундального гастрита в текущей клинической практике составила 2,6 % по данным «ГастроПанель» и 3,5 % по результатам «ГастроСкрин-3»; в случайной выборке жителей г. Новосибирска 45–69 лет – 1,6 % («ГастроПанель»).

6. Генотип AG гена *TCN2* ассоциирован с развитием анемии у *Helicobacter pylori*-инфицированных пациентов (ОШ 5,89; 95 % ДИ 1,17–29,59, $p = 0,024$), а у пациентов с генотипом GG гена *TNF* в 3 раза выше риск развития дефицита витамина В₁₂, чем у пациентов с генотипом AA (ОШ 3,1; 95 % ДИ 1,11–8,82, $p = 0,042$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовано использовать серологические диагностические критерии биомаркеров желудочной атрофии с помощью тест-систем «ГастроПанель» и «ГастроСкрин-3» для выявления аутоиммунного варианта атрофического фундального гастрита.

2. Учитывая частую ассоциацию с другими аутоиммунными заболеваниями, особенно с аутоиммунным тиреоидитом, рекомендовано скрининговое обследование пациентов на наличие аутоиммунного гастрита и наоборот.

3. С учетом высокой коморбидности с *Helicobacter pylori*-инфекцией, включая цитотоксический CagA+ штамм, рекомендован ее активный поиск у пациентов с аутоиммунным гастритом и проведение эрадикационной терапии в случае ее выявления.

4. Использование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов для дифференциации между здоровыми лицами, пациентами с аутоиммунным гастритом и пациентами с инфекцией *Helicobacter pylori* может быть полезным для ранней диагностики и мониторинга состояния пациентов.

СПИСОК СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Белковец А. В., Ожиганова Н. В., Антипенко А. Г., Курилович С. А. Аутоиммунный гастрит в клинической практике. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;182(10): 142–147 (РИНЦ, Scopus)
2. Белковец А.В., Ожиганова Н.В. Все ли полипы желудка одинаковы? Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;1(6):134-139. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-190-6-134-139> (РИНЦ, Scopus)
3. Кручинина М.В., Белковец А.В., Ожиганова Н.В., Щербакова Л.В. Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с аутоиммунным гастритом. Сибирский научный медицинский журнал. 2022;42(6):60-69. <https://doi.org/10.18699/SSMJ20220607> (РИНЦ, Scopus)
4. Белковец А. В., Кручинина М. В., Ожиганова Н. В., Щербакова Л. В. Клинико-лабораторные особенности аутоиммунного гастрита в Сибири. Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. 2022;12:116-121 DOI 10.37882/2223-2966.2022.12.03 (РИНЦ)
5. Ожиганова Н.В., Белковец А.В., Кручинина М.В. Ранняя диагностика аутоиммунного гастрита. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023;(4):12-18. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-212-4-12-18> (РИНЦ, Scopus)
6. Белковец А.В., Ожиганова Н.В., Кручинина М.В., Полонская Я.В., Щербакова Л.В. Анализ серологической диагностики функционального состояния слизистой желудка в клинической практике. Бюллетень сибирской медицины. 2024;23(2):21-27. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-21-27>. (РИНЦ, Scopus, Web of Science)
7. Ожиганова Н.В., Белковец А.В., Кручинина М.В., Максимова С.В., Шабанова Е.С., Максимов В.Н. Ассоциации полиморфизмов генов TNF, TCN2, IL1B, VACH2 с аутоиммунным гастритом. Дневник Казанской медицинской школы, 24(1):7-10. (РИНЦ)

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

IL-1B - интерлейкин -1B

MCH – Среднее содержание гемоглобина в эритроците

MCV – Средний корпускулярный объем эритроцита

OLGA – Operative Link for Gastritis Assessment

TNF – фактор некроза опухоли

H.pylori – Helicobacter pylori

АВФ – антитела к внутреннему фактору

АИГ – аутоиммунный гастрит

АИТ – аутоиммунный тиреоидит

АПК – антитела к париетальным клеткам

АТПО – антитела к тиреопероксидазе

ЖДА – железодефицитная анемия

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ЗНО – злокачественное новообразование

НЭО – нейроэндокринная опухоль

ОШ – отношение шансов

ПА – пернициозная анемия

ПГ I – пепсиноген I

ПГ II – пепсиноген II

ПГ I/ПГ II – соотношение пепсиногена I к пепсиногену II

РЖ – рак желудка

СОЖ – слизистая оболочка желудка