

ВЗАИМОСВЯЗЬ АТРОФИИ И АПОПТОЗА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ТЕЛА ЖЕЛУДКА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗНОРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ НАСЕЛЕНИЯ

Цуканов В. В.¹, Амельчугова О. С.¹, Третьякова О. В.², Бичурина Т. Б.³, Каспаров Э. В.¹,
 Буторин Н. Н.⁴, Васютин А. В.¹

¹ ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» СО РАМН, Красноярск

² МБУЗ городская поликлиника № 14 Красноярска

³ ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздравсоцразвития РФ

⁴ Хакасская республиканская больница, г. Абакан

Цуканов Владислав Владимирович
 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3-2
 Тел.: (391) 212-53-63; (391) 259-81-20
 E-mail: gastro@impn.ru

РЕЗЮМЕ

Цель. Исследовать распространенность атрофического гастрита, CagA-штаммов *H. pylori*, показатели обсемененности бактерий и индекс апоптоза в слизистой оболочке тела желудка у коренных и пришлых жителей Эвенкии.

Материалы и методы. Определение *H. pylori* и морфологическое исследование слизистой оболочки тела желудка по визуально-аналоговой шкале выполнено 159 европеоидам и 136 эвенкам. Определение показателей апоптоза в слизистой оболочке тела желудка было проведено с использованием TUNEL-метода 24 европеоидам и 22 эвенкам.

Результаты. Распространенность атрофического гастрита тела желудка составила у европеоидов 23,9%, у эвенков — 13,3%. CagA-штаммы *H. pylori* встречались у 59,6% европеоидов и у 43,6% эвенков. Суммарный показатель апоптоза в слизистой оболочке большой кривизны желудка у пришлых жителей составил $4,99 \pm 0,23\%$, у коренных жителей — $3,19 \pm 0,28\%$.

Заключение. Обнаружены этнические отличия распространенности атрофического гастрита, которые могут быть объяснены различиями интенсивности апоптоза в слизистой оболочке большой кривизны желудка у коренных и пришлых жителей Эвенкии.

Ключевые слова: апоптоз; атрофический гастрит; *Helicobacter pylori*

SUMMARY

To investigate the prevalence of atrophic gastritis and *H. pylori* CagA strains, bacterial contamination rates and the index of apoptosis in gastric body mucosa in native and alien inhabitants of Evenkia.

Materials and Methods. Determination of *H. pylori* and morphological examination of the gastric mucosa by visual analog scale was performed in 159 Caucasoids and 136 Evenks. Determination of apoptosis indicators in the gastric body mucosa was performed using the TUNEL-method in 24 Caucasoids and 22 Evenks.

Results. The prevalence of atrophic gastritis of the gastric body was 23.9% in Caucasoids and 13.3% in Evenks. CagA strains of *H. pylori* were observed in 59.6% of Caucasoids and 43.6% of Evenks. The overall index of apoptosis in the mucosa of the gastric greater curvature in alien inhabitants was $4.99 \pm 0.23\%$, in native inhabitants — $3.19 \pm 0.28\%$.

Conclusion. Were found ethnic differences of atrophic gastritis prevalence, which can be explained by differences in the intensity of apoptosis in the mucosa of the gastric greater curvature in native and alien inhabitants of Evenkia.

Keywords: apoptosis; atrophic gastritis; *Helicobacter pylori*

ВВЕДЕНИЕ

Реализация эффектов *H.pylori* при развитии патологии желудка недостаточно изучена и представляет большой интерес для исследователей. Одним из механизмов, играющим роль в возникновении атрофии слизистой оболочки желудка, является апоптоз. Большинство исследований показывают, что апоптоз коррелирует со степенью воспаления и плотностью обсемененности *H.pylori* [9; 13]. Данные об участии апоптоза в развитии атрофии слизистой оболочки желудка противоречивы. Т. Yoshimura и соавт. [12] показали положительную корреляцию индекса апоптоза и степени железистой атрофии. В ряде других работ [4; 10] подобной связи не было обнаружено. Очевидная дискуссия обуславливает необходимость дальнейшего изучения этой проблемы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В рамках эпидемиологического исследования распространенности хронического гастрита обследовано 159 европеоидов (73 мужчин, 86 женщин) и 136 эвенков (65 мужчин, 71 женщина) в возрасте от 18 лет и старше в пп. Суринда и Полигус Эвенкийского муниципального района Красноярского края. Численность и национальность населения определяли по спискам, утвержденным местными органами управления. Скрининг гастрита осуществлен одномоментным (поперечным) методом по 50%-ной случайной выборке при помощи эзофагофиброскопии с биопсией слизистой оболочки тела антрального отдела, большой и малой кривизны тела желудка и морфологическим исследованием. Для качественной гистологической оценки срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Для оценки морфологических изменений слизистой оболочки желудка использовали разработанную на основе Сиднейской системы визуально-аналоговую шкалу для определения выраженности воспаления, наличия атрофии, кишечной метаплазии и степени обсемененности *H.pylori* [5].

У всех обследованных лиц *Helicobacter pylori* исследовали тремя методами — морфологическим [1], уреазным и серологическим [2]. Вычислялись индекс обсемененности (ИО) и плотность обсемененности (ПО). IgG *H.pylori* определялись в сыворотке крови иммуноферментным методом тест-системами «Иммунокомб» фирмы *Organics*, Израиль, IgG CagA *H. pylori* — тест-системами «Вектор Бест» (Новосибирск).

Апоптоз в слизистой оболочке большой кривизны желудка определяли в парафиновых срезах у 24 пришлых (средний возраст $42,3 \pm 2,51$ года) и 22 эвенков (средний возраст $39,4 \pm 2,23$ года) с *H.pylori*-ассоциированным гастритом по 15%-ной случайной выборке. Детекция апоптоза проводилась методом TUNEL (terminal deoxynucleotid transferase-mediated dUTP nick end labeling) при

помощи набора *Mebstain Apoptosis Detection Kit (Immunotech, Франция)* согласно протоколу производителя. Срезы докрасивались йодидом пропидия. В препаратах при 400-кратном увеличении микроскопа определяли апоптотический индекс (АИ) как долю (в %) TUNEL-положительно окрашенных клеток в 10 случайно выбранных полях зрения (≥ 1000 клеток). АИ оценивали отдельно в поверхностно-ямочном эпителии (ПЯЭ), эпителии желудочных желез (ЖЭ) и строме, а также подсчитывали суммарный АИ.

Согласно Хельсинкской декларации, регламентирующей проведение научных исследований, обследование пациентов осуществлялось после подписания ими информированных согласий. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НИИМПС» СО РАМН, протокол № 1 от 30 января 2006 года.

Статистическая обработка результатов осуществлена с применением прикладных программ *Statistica 6.0*. До проведения статистического анализа оценивался характер распределения признаков на нормальность. Достоверность различий количественных признаков, имеющих нормальное распределение, анализировали с помощью *t*-критерия Стьюдента в доверительном интервале более 95%. В случае ненормального распределения вариационного ряда достоверность различий анализировали с помощью критерия Манна — Уитни. Для анализа статистической значимости различий качественных признаков использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Для описания распределений применяли среднее значение (*M*), среднеквадратическое отклонение (*s*), стандартную ошибку среднего (*m*). Для анализа связи количественных и порядковых признаков определяли коэффициент ранговой корреляции по Спирмену.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Распространенность атрофии и кишечной метаплазии в слизистой оболочке тела желудка различалась в исследованных популяциях, составив у европеоидов 23,9 и 10,6%; у эвенков — 13,3% ($p = 0,02$) и 3,9% ($p = 0,04$).

Отличия распространенности атрофии в слизистой оболочке желудка в двух генетически разнородных популяциях также были получены в работе G. M. Naylor и соавт. [8]: гастрит тела желудка или пангастрит встречался чаще у пациентов из Японии, чем у англичан (63 и 36% соответственно, $p = 0,003$). Значительная разница распространенности атрофии при сравнении японцев и эвенков может быть объяснена влиянием генетических факторов. В подтверждение роли генетических факторов

на распространенность патологии можно привести данные, подтверждающие превалирование частоты гастрита и рака желудка у китайцев в сравнении с индийцами [6].

CagA-штаммы *H.pylori* регистрировались у 59,6% пришлых жителей и у 43,6% коренного населения ($p = 0,01$). У европеоидов плотность обсемененности бактерий ($214,7 \pm 8,8$) была более высокой в сравнении с монголоидами ($45,4 \pm 2,0$; $p < 0,001$). Исходя из этих данных, очевидно, что частота атрофического гастрита в теле желудка была выше в той популяции, где определялись более высокие показатели обсемененности и частота CagA-штаммов *H.pylori*. Возможность существования этнической дифференциации распространенности штаммов *H.pylori* и их ассоциации с патологией ранее была показана в отечественных [3] и зарубежных [11] работах.

При исследовании показателей апоптоза среди жителей Эвенкии с *H.pylori*-ассоциированным

гастритом обнаружено, что в слизистой оболочке тела желудка апоптотический индекс в поверхностно-ямочном, железистом эпителии и строме был выше у пришлых жителей в сравнении с коренными (табл. 1).

Известно, что направление патологического процесса в слизистой оболочке желудка определяется взаимоотношением апоптоза и пролиферации [7]. Амплитуда дискуссии колеблется от признания важности доминирования апоптоза над пролиферацией для возникновения атрофии до значимости повышения пролиферации как стадии развития дисплазии и рака желудка [13]. Мы рассматриваем наши результаты как первый этап исследования этой сложной проблемы.

В обеих популяциях при атрофическом гастрите апоптоз в слизистой оболочке тела желудка повышался. Однако у эвенков с атрофией это повышение было более значительным по сравнению с европеоидами (табл. 2). При этом необходимо обратить

Таблица 1

ИНДЕКС АПОПТОЗА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ БОЛЬШОЙ КРИВИЗНЫ ЖЕЛУДКА У БОЛЬНЫХ <i>H. PYLORI</i> -АССОЦИИРОВАННЫМ ГАСТРИТОМ (%; $M \pm m$)				
Популяция	Индекс			
	ПЯЭ	ЖЭ	строма	суммарно
Европеоиды, $n = 24$	$3,11 \pm 0,27$	$4,61 \pm 0,37$	$5,92 \pm 0,37$	$4,99 \pm 0,23$
Эвенки, $n = 22$	$1,42 \pm 0,17$	$2,74 \pm 0,26$	$3,79 \pm 0,33$	$3,19 \pm 0,28$
P_{1-2}	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$

Примечания:

Достоверность различий рассчитана с использованием *t*-критерия Стьюдента.

ПЯЭ — поверхностно-ямочный эпителий, ЖЭ — железистый эпителий.

Таблица 2

ИНДЕКС АПОПТОЗА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ БОЛЬШОЙ КРИВИЗНЫ ЖЕЛУДКА У БОЛЬНЫХ <i>H. PYLORI</i> -АССОЦИИРОВАННЫМ ГАСТРИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ АТРОФИИ (%; $M \pm m$)					
Популяция	Диагноз	Индекс			
		ПЯЭ	ЖЭ	строма	суммарно
Европеоиды, $n = 24$	1. Неатрофический гастрит, $n = 16$	$3,07 \pm 0,12$	$4,41 \pm 0,15$	$5,83 \pm 0,22$	$4,77 \pm 0,19$
	2. Атрофический гастрит, $n = 8$	$3,43 \pm 0,14$	$4,97 \pm 0,20$	$6,37 \pm 0,25$	$5,44 \pm 0,21$
Эвенки, $n = 22$	3. Неатрофический гастрит, $n = 17$	$1,24 \pm 0,10$	$2,25 \pm 0,14$	$3,59 \pm 0,23$	$2,83 \pm 0,18$
	4. Атрофический гастрит, $n = 5$	$1,56 \pm 0,14$	$3,81 \pm 0,13$	$4,18 \pm 0,17$	$3,61 \pm 0,19$
P_{1-2}		0,05	0,02	0,10	0,02
P_{2-4}		$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$
P_{1-3}		$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$
P_{3-4}		0,06	$< 0,001$	0,04	0,002

Примечания:

Достоверность различий рассчитана с использованием *t*-критерия Стьюдента.

ПЯЭ — поверхностно-ямочный эпителий, ЖЭ — железистый эпителий.

внимание на то, что по абсолютным показателям выраженность апоптоза у европеоидов с неатрофическим гастритом была более высокой, чем у эвенков с атрофическим гастритом ($p = 0,01$).

ВЫВОДЫ

Распространенность атрофии, кишечной метаплазии в слизистой оболочке тела желудка и CagA-штаммов *H.pylori* у европеоидов была более высокой, чем у эвенков.

Зарегистрировано превалирование показателей индекса апоптоза у европеоидов в сравнении с монголоидами. В обеих популяциях при атрофическом гастрите апоптоз в слизистой оболочке тела желудка

повышался в сопоставлении с лицами с неатрофическим гастритом.

Таким образом, нами обнаружена однотипная связь апоптоза и атрофии в генетически различных популяциях населения, что указывает на фундаментальный характер ассоциации увеличения апоптоза и дегенеративных процессов в слизистой оболочке тела желудка. Заслуживает особенного внимания факт преобладания распространенности атрофического гастрита в этнической группе с более высокими показателями обсемененности *H.pylori*, частоты CagA и индексом апоптоза, что подтверждает идею выраженной зависимости этих факторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аруин Л. И. Оценка обсемененности слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori* и активности хронического гастрита / Л. И. Аруин, В. А. Исаков // Арх. патол. — 1995. — № 3 — С. 75–76.
2. Лапина Т. Л. Основные принципы диагностики *Helicobacter pylori* / Т. Л. Лапина // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 1999. — № 2. — С. 41–45.
3. Цуканов В. В. Показатели клеточного обновления эпителиоцитов слизистой оболочки желудка у *H. pylori*-позитивных пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки / В. В. Цуканов, А. В. Кононов, О. В. Штыгашева и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 2007. — № 5. — С. 24–27.
4. Anti M. Importance of changes in epithelial cell turnover during *Helicobacter pylori* infection in gastric carcinogenesis / M. Anti, A. Armuzzi, A. Gasbarrini // Gut. — 1998. — Vol. 43, No. 1. — P. 27–32.
5. Dixon M. F. Histological classification of gastritis and *Helicobacter pylori* infection: an agreement at last? The International Workshop on the Histopathology of Gastritis / M. F. Dixon, R. M. Genta, J. H. Yardley // Helicobacter. — 1997. — Vol. 2, No. 1. — P. 17–24.
6. Miwa H. N. *H. pylori* and gastric cancer: the Asian enigma / H. Miwa, M. F. Go, N. Sato // Am. J. Gastroenterol. — 2002. — Vol. 97, No. 5. — P. 1106–1112.
7. Murakami K. *Helicobacter pylori* infection accelerates human gastric mucosal cell proliferation / K. Murakami, T. Fujioka, R. Kodama et al. // J. Gastroenterol. — 1997. — Vol. 32, No. 2. — P. 184–188.
8. Naylor G. M. Why does Japan have a high incidence of gastric cancer? Comparison of gastritis between UK and Japanese patients / G. M. Naylor, T. Gotoda, M. Dixon et al. // Gut. — 2006. — Vol. 55, No. 11. — P. 1545–1552.
9. Vorobjova T. Apoptosis in different compartments of antrum and corpus mucosa in chronic *Helicobacter pylori* gastritis. An 18-year follow-up study / T. Vorobjova, H. I. Maaroos, P. Sipponen et al. // Scand. J. Gastroenterol. — 2001. — Vol. 36, No. 2. — P. 113–115.
10. Wagner S. Regulation of gastric epithelial cell growth by *Helicobacter pylori*: evidence for a major role of apoptosis / S. Wagner, W. Beil, J. Westermann et al. // Gastroenterology. — 1997. — Vol. 113, No. 11. — P. 1836–1847.
11. Yamaoka Y. Geographic differences in gastric cancer incidence can be explained by differences between *Helicobacter pylori* strains / Y. Yamaoka, M. Kato, M. Asaka // Inter. Med. — 2008. — Vol. 47, No. 6. — P. 1077–1083.
12. Yoshimura T. Gastric mucosal inflammation and epithelial cell turnover are associated with gastric cancer in patients with *Helicobacter pylori* infection / T. Yoshimura, T. Shimoyama, M. Tanaka et al. // J. Clin. Pathol. — 2000. — Vol. 53, No. 3. — P. 532–536.
13. Zhang Z. Apoptosis, proliferation and p53 gene expression of *H. pylori* associated gastric epithelial lesions / Z. Zhang, Y. Yuan, H. Gao et al. // World J. Gastroenterol. — 2001. — Vol. 7, No. 6. — P. 779–782.

