

© ЦУКАНОВ В.В., АМЕЛЬЧУГОВА О.С., БИЧУРИНА Т.Б., САЛМИНА А.Б., ТРЕТЬЯКОВА О.В., КАСПАРОВ Э.В., БУТОРИН Н.Н., ВАСЮТИН А.В.

УДК 616.33

ЭТНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОСВЯЗИ АПОПТОЗА И АТРОФИИ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ АНТРАЛЬНОГО ОТДЕЛА ЖЕЛУДКА

В.В. Цуканов, О.С. Амельчугова, Т.Б. Бичурина, А.Б. Салмина,
О.В. Третьякова, Э.В. Каспаров, Н.Н. Буторин, А.В. Васютин

НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, директор – член-корр. РАМН В.Т. Манчук; клиническое отделение патологии органов пищеварения у взрослых, рук. – д.м.н., проф. В.В. Цуканов, Красноярск; ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздравсоцразвития РФ, ректор – д.м.н., проф. И.П. Артюхов; МБУЗ городская поликлиника №14 г. Красноярск, гл. врач – к.м.н. С.А. Фандюхин; Хакасская республиканская больница, г. Абакан, гл. врач – В.Ф. Костюш.

Резюме. 273 европеоидам и 194 эвенкам проведены фиброгастроскопия с забором биопсий слизистой оболочки антрального отдела желудка, морфологическое исследование по визуально-аналоговой шкале, определение *H. pylori* и *Cag A H. pylori*. Изучение показателей апоптоза в слизистой оболочке антрального отдела желудка было выполнено с использованием TUNEL-метода 24 европеоидам и 22 эвенкам.

Индекс апоптоза в слизистой оболочке антрального отдела желудка у пришлых жителей с атрофией составил $7,08 \pm 0,72\%$, у лиц без атрофии – $4,04 \pm 0,32\%$, у коренных жителей, соответственно, – $4,25 \pm 0,59\%$, $3,47 \pm 0,40\%$. Индекс апоптоза у лиц с *Cag A* штаммами *H. pylori* был более высоким в сравнении с пациентами без *Cag A* в обеих обследованных популяциях.

Ключевые слова: апоптоз, атрофический гастрит, *H. pylori*.

Цуканов Владислав Владимирович – д.м.н., проф. руководитель гастроэнтерологического отделения НИИ Медицинских проблем Севера СО РАМН; e-mail: gastro@impn.ru.

Амельчугова Ольга Сергеевна – к.м.н., старший научный сотрудник НИИ Медицинских проблем Севера СО РАМН; e-mail: am_olya@hotmail.com.

Бичурина Татьяна Борисовна – ассистент кафедры патологической анатомии КрасГМУ; e-mail: bichurinatb@mail.ru.

Согласно современным представлениям, хронический *H. pylori*-ассоциированный гастрит – первый шаг каскада Correa, ведущего через последовательные стадии атрофии, метаплазии и дисплазии к аденокарциноме желудка [5]. Существует точка зрения, что одним из механизмов, играющих роль в прогрессировании хронического гастрита до атрофического, является увеличение апоптоза в слизистой оболочке желудка [13]. С другой стороны, есть работы, показывающие, что *H. pylori* не влияет на апоптоз и степень атрофии в слизистой оболочке желудка [3]. Сравнительные исследования клеточного обновления в слизистой оболочке желудка в различных этнических группах являются единичными, а в России практически отсутствуют.

Материалы и методы

Исследование выполнено в пп. Суринда и Полигус Эвенкийского муниципального района. Скрининг гастрита осуществлен одномоментным (поперечным) методом по 50% случайной выборке при помощи эзофагофиброгастроскопии с прицельной биопсией слизистой антрального отдела желудка. Обследовано 273 европеоида (104 мужчины и 169 женщин) и 194 эвенков (77 мужчин и 117 женщин) в возрасте от 18 лет и старше. Средний возраст пришлого населения составил $41,1 \pm 3,3$ года, а у коренных жителей – $36,7 \pm 4,1$ лет.

Согласно Хельсинской Декларации, регламентирующей проведение научных исследований, обследование пациентов осуществлялось после подписания ими информированного согласия. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НИИМПС» СО РАМН, протокол № 1 от 30 января 2006 г.

Морфологические исследования были выполнены у 273 пришлых и 194 коренных пациентов. 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* [7].

Helicobacter pylori исследовали тремя методами – морфологическим, уреазным и серологическим. Морфологический метод применялся для определения *H. pylori* в биоптатах слизистой из пилорического отдела желудка при помощи световой микроскопии после окраски по Гимзе [1]. Вычислялись индекс обсемененности (ИО), плотность обсемененности (ПО), индекс адгезии (ИА) и плотность адгезии (ПА). Определение *H. pylori* уреазным [2] и морфологическим методами выполнено у 194 коренных и 273 пришлых жителей. IgG *H. pylori* определялись в сыворотке крови иммуноферментным методом тест-системами Иммунокомб фирмы Orgenics, Израиль, IgG Cag A *H.pylori* – тест-системами «Вектор Бест» (Новосибирск) у 273 европеоидов, 194 эвенков.

Апоптоз в слизистой оболочке антрального отдела и тела 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 10% случайной выборке. Детекция апоптоза проводилась методом TUNEL при помощи набора Mebstain Apoptosis Detection Kit (Immunotech, France) согласно протоколу производителя. Для детекции ядерного материала срезы докраскивались 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.

Статистическая обработка результатов осуществлена с применением прикладных программ «Statistica v. 6.0», Statsoft Inc., и Microsoft Excel 9.0. 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, при заданном уровне значимости $p \leq 0,05$. Для анализа связи количественных и порядковых признаков определяли коэффициент ранговой корреляции по Спирмену.

Результаты и обсуждение

При исследовании структуры слизистой оболочки в антральном отделе желудка было обнаружено, что частота атрофии и метаплазии у европеоидов была выше, чем у эвенков, составив у пришлых жителей 25,8% и 10,7%, а коренного населения – 14,0% ($p=0,005$) и 5,1% ($p=0,04$), соответственно.

Надо заметить, что распространенность атрофического гастрита значительно колеблется в различных странах мира. В Италии она составляет 12,1% [11], в Португалии – 20% [6], в Японии – 60% [8]. Географические вариации уровня патологии подчеркивают целесообразность изучения этой проблемы в зависимости от популяционных факторов.

В слизистой оболочке антрального отдела частота *H. pylori* среди больных гастритом составила у европеоидов 98,7%, у эвенков – 98,5%. СаgА штаммы *H. pylori* встречались у 59,6% европеоидов и у 43,6% эвенков ($p=0,01$). У

европеоидов плотность обсемененности и плотность адгезии бактерий была более высокой в сравнении с монголоидами. Так, у пришлых жителей в антральном отделе желудка плотность обсемененности была выше в 2,4 раза ($p < 0,001$), плотность адгезии – в 2,5 раз ($p < 0,001$), чем у коренного населения.

Индекс апоптоза в слизистой оболочке желудка среди больных хроническим *H. pylori*-ассоциированным гастритом в антральном отделе желудка у европеоидов был выше, чем у эвенков (табл. 1), что по нашему мнению является одной из ведущих причин превалирования частоты атрофического гастрита у первых в сравнении со вторыми.

Обнаружено, что у европеоидов при атрофическом гастрите апоптоз в слизистой оболочке антрального отдела повышался в сравнении с пациентами без атрофии. У эвенков в антральном отделе при атрофическом гастрите апоптоз повышался только в эпителиоцитах, общий индекс апоптоза не изменялся (табл. 2).

Анализ корреляций позволил обнаружить прямую связь показателей обсемененности *H. pylori* и индекса апоптоза в слизистой оболочке желудка в обследованных популяциях. Однако у пришлых жителей корреляция показателей обсемененности и апоптотического индекса была более сильной, чем у коренного населения (табл. 3).

Особый интерес для нас представляло влияние CagA штаммов *H. pylori* на интенсивность апоптоза и тем самым участие их в патогенезе атрофического гастрита. Было зарегистрировано, что в антральном отделе в обеих популяциях у пациентов с CagA общий индекс апоптоза был выше в сравнении с лицами без CagA ($6,06 \pm 0,58$ у CagA+ европеоидов и $4,22 \pm 0,39$ у CagA-европеоидов, $p = 0,01$; $4,23 \pm 0,34$ у CagA+ эвенков и $2,95 \pm 0,3$ у CagA- эвенков, $p < 0,001$).

Механизмы индукции апоптоза протеином CagA в настоящее время не ясны. М.М. Cabral et al. показали, что CagA *H. pylori* вызывает повышенную экспрессию про-апоптотических протеинов в слизистой оболочке желудка [4]. В то же время мнения о взаимосвязи CagA и апоптоза в слизистой оболочке желудка расходятся. В 1997 году R.M. Peek et al. [12] сообщили, что CagA

штаммы угнетают апоптоз эпителиоцитов в слизистой оболочке желудка. В 2001 году S.F. Moss et al. [10] опубликовали прямо противоположные результаты, в которых показали, что CagA штаммы *H.pylori* стимулируют апоптоз эпителиоцитов в слизистой оболочке желудка. Исследования были проведены в одной лаборатории при помощи методики TUNEL, однако группы пациентов были разными, в первом случае – европеоиды, во втором – афроамериканцы. Мы поддерживаем точку зрения исследователей [9, 10] о том, что CagA-позитивные штаммы повышают апоптоз в клетках желудочного эпителия.

Таким образом, выполненное исследование показало, что существуют этнические отличия частоты атрофического гастрита у популяций монголоидов и европеоидов Эвенкии. Важным патогенетическим звеном развития атрофии является апоптоз, ассоциированный с показателями обсемененности *H. pylori* и наличием CagA штаммов. Как абсолютные значения апоптоза, так и его корреляция с атрофией и *H. pylori* превалируют у пришлых жителей в сравнении с коренным населением. С нашей точки зрения, полученные результаты могут быть полезны для развития научных исследований и совершенствования лечебно-профилактических мероприятий.

ETHNIC PECULIARITIES OF THE RELATIONSHIP OF APOPTOSIS AND ATROPHY IN THE MUCOSA OF THE GASTRIC ANTRUM

V.V. Tsukanov, O.S. Amelchugova, T.B. Bicurina, A.B. Salmina,

O.V. Tretyakova, E.V. Kasparov, N.N. Butorin, A.V. Vasyutin

Scientific research institute of medical problems of the North, Krasnoyarsk;

Krasnoyarsk State Medical University named Professor V.F. Voyno-Yasenetsky;

Municipal Budgetary Health Institution City Polyclinic № 14 of Krasnoyarsk;

Khakassian Republican Hospital, Abakan.

Abstract. 273 of Europoids and 194 of Evenki held fibrogastroscopy with biopsy sampling of the mucosa of the gastric antrum, morphological study on a visual - analog scale, the definition of *H. pylori* and Cag A *H. pylori*. The study of indicators

of apoptosis in the mucosa of the gastric antrum was done using the TUNEL-method in 24 Europoids and 22 Evenki.

The index of apoptosis in mucosa of the gastric antrum in alien settlers with the atrophy was $7,08 \pm 0,72\%$, in patients without atrophy - $4,04 \pm 0,32\%$, the indigenous inhabitants, respectively, - $4,25 \pm 0,59\%$, $3,47 \pm 0,40\%$. Apoptosis index in patients with Cag A strains of *H. pylori* was higher in comparison to patients without Cag A in both studied populations.

Key words: apoptosis, atrophic gastritis, *H. pylori*.

Литература

1. Аруин Л.И., Исаков В.А. Оценка обсемененности слизистой оболочки желудка *Helicobacter Pylori* и активности хронического гастрита // Архив патологии. – 1995. – № 3. – С. 75-76.
2. Лапина Т.Л. Основные принципы диагностики *Helicobacter Pylori* // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1999. – № 2 – С. 41-45.
3. Anti M. A., Armuzzi A., Gasbarrini A. et al. Importance of changes in epithelial cell turnover during *Helicobacter pylori* infection in gastric carcinogenesis // Gut. – 1998. – Vol. 43, Suppl.1. – P.27-32.
4. Cabral M.M., Mendes C.M., Castro L.P. et al. Apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis is related to cagA status // *Helicobacter*. – 2006. – Vol. 11, № 5. – P.469-476.
5. Correa P. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis // Am. J. Surg. Pathol. – 1995. – Vol. 19, № 1. – P.37–43.

6. De Mello E.S., Melo C.R. Prevalence of the various types of gastritis in patients with upper dyspeptic symptoms // *Arq. Gastroenterol.* – 1992. – Vol. 29, № 2. – P. 43-50.
7. Dixon M.F., Genta R.M., Yardley J.H. Histological classification of gastritis and *Helicobacter pylori* infection: an agreement at last? The International Workshop on the Histopathology of Gastritis // *Helicobacter.* – 1997. – Vol. 2, Suppl. 1. – P.17-24.
8. Kikuchi S., Yagyu K., Obata Y. et al. Serum pepsinogen values and *Helicobacter pylori* status among control subjects of a nested case-control study in the JACC study // *J. Epidemiol.* – 2005. – Vol. 15, Suppl.2. – P.126-133.
9. Maeda S., Yoshida H., Mitsuno Y. et al. Analysis of apoptotic and antiapoptotic signaling pathways induced by *Helicobacter pylori* // *Gut.* – 2002. – Vol. 50, № 5. – P.771-778.
10. Moss S.F., Sordillo E.M., Abdalla A.M. et al. Increased gastric epithelial cell apoptosis associated with colonization with *cagA* + *Helicobacter pylori* strains // *Cancer Res.* – 2001. – Vol. 61, № 4. – P.1406-1411.
11. Palli D., Decarli A., Cipriani F. et al. Plasma pepsinogens, nutrients, and diet in areas of Italy at varying gastric cancer risk // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 1991. – Vol. 1, № 1. – P.45-50.
12. Peek R.M.J., Moss S.F., Tham K.T. et al. *Helicobacter pylori cagA*+ strains and dissociation of gastric epithelial cells proliferation from apoptosis // *J. Nat. Cancer Inst.* – 1997. – Vol. 89, № 6. – P. 863-868.
13. Targa A.C., César A.C., Cury P.M. et al. Apoptosis in different gastric lesions and gastric cancer: relationship with *Helicobacter pylori*, overexpression of p53 and aneuploidy // *Genet. Mol. Res.* – 2007. – Vol. 6, № 3. – P.554-565.