

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Краткое сообщение

УДК 616–091.817

doi:10.18499/2225-7357-2022-11-3-109-113

3.3.2 – патологическая анатомия



Оценка содержания нейроэндокринных клеток в слизистой оболочке желудка у больных аутоиммунным гастритом

Д. П. Нагорная[✉], С. Д. Саркисян, О. В. Васильева,
К. А. Ильичева, А. С. Тертычный

Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова
(Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация. Цель исследования – оценить содержание нейроэндокринных клеток в иммуногистохимически окрашенных препаратах и определить различия в количестве нейроэндокринных клеток (НЭК) в теле желудка при аутоиммунном гастрите (АИГ) и других формах гастритов.

Материал и методы. В исследование было включено 27 случаев АИГ и 9 случаев хронических атрофических гастритов не связанных с аутоиммунными механизмами развития болезни. Возраст больных варьировал от 36 до 77 лет и в среднем составил 54,9 года. Биоптаты забирали согласно принятым протоколам: из антрального отдела по 2–3 биоптата и по 2 биоптата из тела желудка. Проводили иммуногистохимическую реакцию с антителом к хромогранину А на автоматическом иммунопейнере Bond Max (Leica, Германия). Препараты были оцифрованы на сканере Aperio AT2 (Leica, Германия), для морфометрического анализа цифровых изображений и проведения подсчета использовали программу для просмотра и анализа цифровых изображений микропрепаратов QuPath v.0.3.0. Результаты обрабатывались в программе Jamovi, Version 1.6 (<https://www.jamovi.org>).

Результаты. По результатам подсчета в группе больных с АИГ было отмечено повышение содержания НЭК. Выявлены диапазоны гиперплазии нейроэндокринных клеток: для АИГ диапазон составил 648–1736 клеток на 1 мм², для других форм гастритов – 416–605 клеток на 1 мм². В группе препаратов АИГ медиана составляет 925 клеток на 1 мм², 1-й квартиль – 877 клеток на 1 мм², 3-й квартиль – 1172 клетки на 1 мм², межквартильный интервал – 295 клеток на 1 мм² (асимметричное распределение); в группе с другими формами гастрита среднее арифметическое – 522±23 клеток на 1 мм² (нормальное распределение).

Заключение. Полученные результаты позволили подтвердить гиперплазию НЭК у больных АИГ. Выявлена статистически значимая разница в количестве НЭК в теле желудка в группе АИГ и других гастритов ($p \leq 0,01$), что может быть предложено в виде дополнительного морфологического критерия диагностики АИГ.

Ключевые слова: аутоиммунный гастрит, нейроэндокринные клетки, гиперплазия

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Нагорная Д.П., Саркисян С.Д., Васильева О.В., Ильичева К.А., Тертычный А.С. Оценка содержания нейроэндокринных клеток в слизистой оболочке желудка у больных аутоиммунным гастритом // Журнал анатомии и гистопатологии. 2022. Т. 11, №3. С. 109–113. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2022-11-3-109-113>

BRIEF ARTICLES

Brief article

Assessment of the content of neuroendocrine cells in the gastric mucosa in patients with autoimmune gastritis

D. P. Nagornaya[✉], S. D. Sarkisyan, O. V. Vasil'eva, K. A. Il'icheva, A. S. Tertychnyi

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract. The aim of the study was to evaluate the content of neuroendocrine cells in immunohistochemically stained preparations and determine differences in the number of neuroendocrine cells (NEC) in the body of the stomach in autoimmune gastritis (AIG) and other forms of gastritis.

Material and methods. The study included 27 cases of AIG and 9 cases of chronic atrophic gastritis not associated with autoimmune mechanisms of disease. The age of the patients ranged from 36 to 77 years and averaged 54.9 years. Biopsies were taken according to accepted protocols: 2–3 biopsies from the antrum and 2 biopsies from the body of the stomach. An immunohistochemical reaction was carried out with an antibody to chromogranin A on an automatic Bond Max immunostainer (Leica, Germany). The slides were digitized on an Aperio AT2 scanner (Leica, Germany), and QuPath v.0.3.0 software for viewing and analyzing digital images of slides was used for morphometric analysis of digital images and counting. The results were processed in the Jamovi program, Version 1.6 (<https://www.jamovi.org>).

Results. According to the results of counting in the group of patients with AIG, there was an increase in the quantity of NEC. Ranges of hyperplasia of neuroendocrine cells were revealed: 648–1736 cells per 1 mm² square were detected for AIG, 416–605 cells per 1 mm² for other forms of gastritis. In the AIG group median is 925 cells per 1 mm², the 1st quartile is 877 cells per 1 mm², 3rd quartile is 1172 cells per 1 mm², interquartile range is 295 cells per 1 mm² (asymmetrical distribution). In the group with other forms of gastritis arithmetic mean is 522±23 cells per millimeter square (normal distribution).

Conclusion. The obtained results allowed to confirm NEC hyperplasia in patients with AIG. A statistically significant difference was found in the number of NEC in the body of the stomach in the group of AIG and other gastritis ($p \leq 0,01$), which can be proposed as an additional morphological criteria for diagnosing AIG.

Key words: autoimmune gastritis, neuroendocrine cells, hyperplasia

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interests.

For citation: Nagornaya D.P., Sarkisyan S.D., Vasil'eva O.V., Il'icheva K.A., Tertychnyi A.S. Assessment of the content of neuroendocrine cells in the gastric mucosa in patients with autoimmune gastritis. *Journal of Anatomy and Histopathology. 2022. V. 11, №3. P. 109–113. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2022-11-3-109-113>*

Введение

Распространенность АИГ колеблется от 0,1% до 1–2% среди населения в целом, чаще всего выявляется у пожилых женщин. Заболевание наиболее распространено среди пациентов с сопутствующими аутоиммунными патологиями, особенно у лиц с хроническим аутоиммунным тиреоидитом и сахарным диабетом 1 типа [1, 2, 7].

Патогенез АИГ обусловлен появлением аутореактивных CD4⁺ Т-лимфоцитов, которые индуцируют продукцию В-клетками иммуноглобулинов против H⁺/K⁺-АТФаз париетальных клеток и внутреннего фактора Касла [5, 9], что приводит к гибели париетальных клеток и склерозированию желез желудка. Клинически проявляется гипохлоридными состояниями, а при долгом течении – В12- и железодефицитными анемиями.

АИГ долгое время может протекать бессимптомно или с наличием неспецифических симптомов. У пожилых людей чаще наблюдаются признаки дефицита витамина В12, в то время как у молодых АИГ проявляется диспепсией и железодефицитными состояниями [10, 14]. В12-дефицитное состояние проявляется гипестезией, гипорефлексией, синдромом хронической усталости и значительно снижает качество жизни [11]. Заболевание может осложняться желудочными нейроэндокринными опухолями 1-го типа. Также при АИГ повышен риск рака желудка и рака других локализаций [4, 10].

Гистологическое исследование биоптатов желудка является наиболее надежным методом диагностики аутоиммунного атрофического гастрита. Но среди специалистов часто различаются критерии постановки патоморфологического диагноза АИГ. Существуют разногласия относительно включения в критерии диагностики АИГ типа метаплазии, при гистологическом исследовании возможна неправильная интерпретация результатов, что приводит к диагностическим ошибкам. Согласно опросу, проведенному S. Rustgi и соавторами [14], при окрашивании синантрофизинном G-клетки антрального отдела ошибочно диагностировались как гиперплазия ЕСЛ-клеток. Более точно специалистами диагно-

стируется гиперплазия ЕСЛ-клеток. При наличии одновременно АИГ и инфекции *H. pylori* можно пропустить этот диагностический критерий. Следует указать, что большинство специалистов не учитывают степень атрофии слизистой желудка при постановке диагноза АИГ. Однако ее необходимо указывать хотя бы при тяжелых случаях развития заболевания, так как это будет показанием для более частого наблюдения за пациентом.

Критерии постановки диагноза АИГ не достаточно точны [4]. В изученной по теме литературе не встретились данные о подсчете нейроэндокринных клеток в препаратах желудка при АИГ. В связи с этим был проведен подсчет данных клеток для получения количественных значений, которые, возможно, могут сыграть роль в диагностике этого заболевания.

Материал и методы исследования

Выборка биоптатов включала в 27 случаев АИГ и 9 случаев хронических атрофических гастритов, не связанных с аутоиммунными механизмами развития болезни. Возраст больных варьировал от 36 до 77 лет и в среднем составил 54,9 года.

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом Первого МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовского Университета) (протокола № 01-21 от 22.01.2021). Пациенты, проходившие обследование и лечение в Университетской клинической больнице № 2 Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, письменно в истории болезни подтверждали свое согласие на обработку персональных данных для учебной и научной деятельности в соответствии с ФЗ «О персональных данных» от 27.07.2006 № 152-ФЗ. Архивный материал данного лечебного учреждения был анонимизирован и деперсонифицирован.

Биоптаты были взяты согласно принятым протоколам: из антрального отдела по 2–3 биоптата и по 2 биоптата из тела желудка. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине. Гистологическая проводка была выполнена в автоматическом гистопроцессоре Leica ASP 30, затем материал залили в

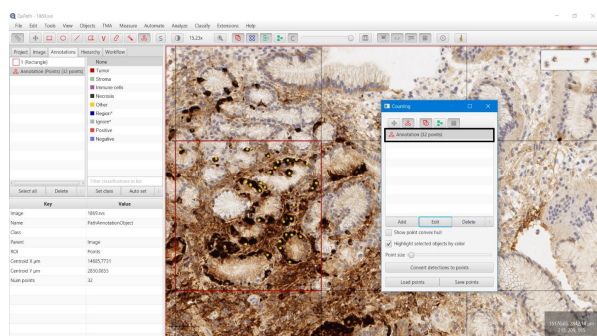


Рис. 1. Скриншот программы QuPath. Применение инструмента «Points» для подсчета НЭК. ИГХ-реакция с антителом к хромогранину А.

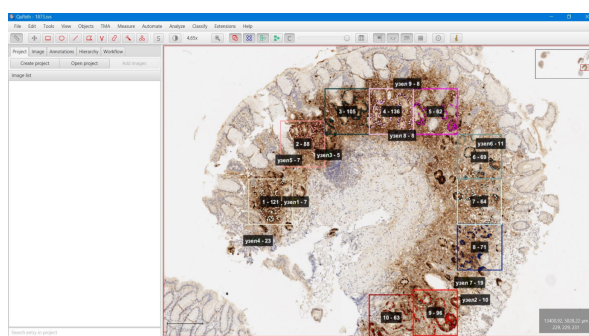


Рис. 2. Скриншот программы QuPath. Выбор квадратов по методу «горячие точки». ИГХ-реакция с антителом к хромогранину А.

парафин на станции Leica EG 1150 (Германия). Гистологические срезы толщиной 3 мкм были окрашены гематоксилином и эозином в автоматической станции Leica ST 5010. Дополнительно проводили ИГХ-реакцию с антителом к хромогранину А (клон 5H7 RTU фирмы «Лейка», Германия) на автоматическом иммуноштейнере Bond Max (фирма «Лейка», Германия). ИГХ-реакция с антителами к хромогранину А не специфична для ECL-клеток, так как он содержится во всех нейроэндокринных клетках желудка, в том числе и в G-клетках, имеющих и в теле желудка [6]. В теле желудка значительно преобладают ECL-клетки, поэтому допустимо принять, что все окрасившиеся клетки являются ECL.

Возраст пациентов с подтвержденным диагнозом АИГ находился в диапазоне от 48 до 77 лет, в этой группе было 20 женщин (от 54 до 76 лет, средний возраст 64,2 года) и 7 мужчин (от 48 до 77 лет, средний возраст 62 года). В группе других форм гастритов возраст пациентов варьировал от 36 до 69 лет, среди них 5 женщин (от 39 до 69 лет, средний возраст 45,4 года) и 4 мужчин (от 36 до 65 лет, средний возраст 48 лет).

Все препараты были оцифрованы с помощью сканирующего микроскопа Aregio AT2. Для подсчета G-клеток в антральном отделе и ECL-клеток в теле желудка была использована программа для просмотра и анализа цифровых изображений микропрепаратов QuPath v.0.3.0.

Срезы антрального отдела желудка и срезы тела желудка различали по локализации клеток, окрасившихся в результате ИГХ-реакции: преимущественно полосовидное расположение окрашенных НЭК характерно для антрального отдела, в то время как диффузное расположение наблюдается чаще в теле желудка [4].

Перед подсчетом с помощью инструмента «Show grid» («показать сетку») изображения были разделены на квадраты равной площади. На основе сетки с помощью инструмента «Rectangle» были построены квадраты площадью $62523.2 \pm 500 \mu\text{m}^2$ и перенесены на области с наибольшей плотностью окрашивания (метод горячих точек), захватывающие

тело и дно желез желудка (НЭК располагаются именно в этих отделах железы, в выводном протоке железы преобладают мукоциты) [14].

В каждом квадрате были вручную были отмечены НЭК с помощью инструмента «Points» («точки»). Критериями выбора клеток были хорошо различимое ядро и интенсивно прокрашенная цитоплазма. С помощью программы подсчитывали число отмеченных клеток в каждом квадрате. (рис. 1, 2).

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Jamovi. На начальном этапе проанализировали выборки на вид распределения с помощью теста Шапиро-Уилка. При нормальном распределении в группе использовали параметрические методы оценки: среднее арифметическое, ошибку среднего, среднеквадратичное отклонение. Для описания группы, распределение параметров в которой было отличным от нормального, использовали непараметрические методы: медиану, 1-й квартиль, 3-й квартиль, межквартильный интервал. Для сравнения полученных выборок использовали U-критерий Манна-Уитни (различия считали значимыми при $p < 0,05$). Для визуализации числовых данных построили диаграмму boxplot в программе Excel.

Результаты и их обсуждение

Диапазон гиперплазии НЭК для АИГ составляет 648–1736 клеток на 1 mm^2 , а для других форм гастритов – 416–605 клеток на 1 mm^2 (рис. 3).

В группе АИГ график распределения имеет правостороннюю асимметрию по тесту Шапиро-Уилка ($p = 0,003$). В этой группе медиана составляет 925 клеток на 1 mm^2 , 1-й квартиль – 877 клеток на 1 mm^2 , 3-й квартиль – 1172 клетки на 1 mm^2 , межквартильный интервал – 295 клеток на 1 mm^2 . В группе других форм гастрита нормальное распределение по тесту Шапиро-Уилка ($p = 0,191$). Среднее арифметическое – 522 ± 23 гиперплазированных НЭК на 1 mm^2 , стандартное отклонение – 67 клеток на 1 mm^2 . Между группами АИГ и других форм гастритов выявлены статистически значимые различия по количеству клеток

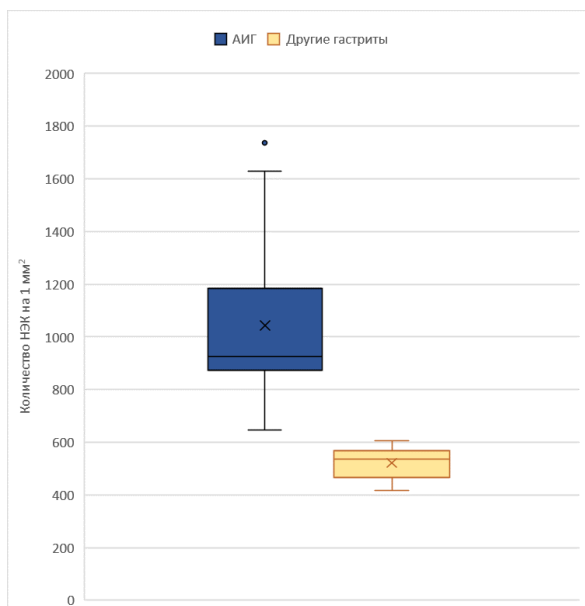


Рис. 3. Количество НЭК в препаратах тел желудка двух групп: АИГ и другие формы гастрита.

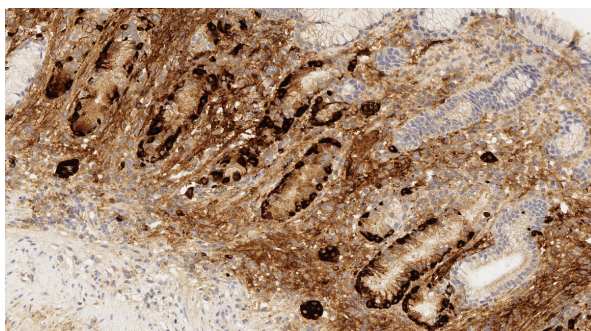


Рис. 4. Линейная (5 и более позитивно окрашенных клеток) и узелковая гиперплазия нейроэндокринных клеток в слизистой оболочке тела желудка у больного аутоиммунным гастритом. ИГХ-реакция с антителом к хромогранину А; об. 20, ок. 10.

на 1 мм² по критерию Манна–Уитни ($p < 0,01$). Было установлено, что в группе АИГ встречаются все виды гиперплазии: простая (на 12 из 27 препаратов), линейная (на 27 из 27 препаратов), узелковая (на 16 из 27 препаратов). Наиболее часто встречающаяся форма гиперплазии в группе АИГ – линейная, причем часто в сочетании с узелковой (рис. 4). В группе других гастритов преобладает простая гиперплазия, часто сочетающаяся с линейной, что также можно предложить в качестве дополнительного диагностического критерия.

Окрашенные клетки располагаются в квадратах площадью $625 \pm 23,2 \pm 500 \mu\text{m}^2$, которые были соразмерны квадратам сетки инструмента «Show grid» («показать сетку») программы QuPath. В квадраты преимущественно захватывались дно и тело кардиальных желез, в большую часть квадратов входили и шейки. В литературе указывается, что гиперплазия ЕСЛ-клеток наиболее характерна для дна и шейки желез. Несмотря на выделение в квадраты разных частей желез, наблюдается увеличенное количество ЕСЛ-клеток в препара-

тах с АИГ по сравнению с их количеством в группе препаратов «другие гастриты», в которую были включены гастриты различной этиологии.

Заключение

АИГ обычно диагностируют на поздних стадиях, так как в начальном периоде заболевание протекает бессимптомно. Гистологическое исследование биоптатов признается многими экспертами наиболее надежным в диагностике АИГ. Однако, как показывает практика, четких морфологических критериев на данный момент не установлено. При постановке диагноза АИГ следует сочетать различные методы диагностики: серологический – определение уровня пепсиногенов, гастрина-17 и антител к париетальным клеткам желез желудка в сыворотке крови, эндоскопический и ИГХ-исследование биоптатов, которое будет играть ключевую роль.

Полученные результаты исследования позволили подтвердить гиперплазию НЭК у больных АИГ. Выявлена статистически значимая разница в количестве НЭК в теле желудка в группе АИГ и других гастритов ($p < 0,01$), что может быть предложено в качестве дополнительного морфологического критерия диагностики АИГ.

Список источников / References

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):142–7 [Belkovets AV, Ozhiganova NV, Antipenko AG, Kurilovich SA. Autoimmune gastritis in clinical practice. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2020 Oct 30;182(10):142–7] (in Russian). EDN: QNCKCL. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-182-10-142-147
2. Деревянко О.С., Ибрагимова Л.И., Рагимов М.Р., Никонова Т.В. Аутоиммунный гастрит как коморбидная патология при сахарном диабете 1 типа. Сахарный диабет. 2018; 21(5):404–8 [Derevyanko OS, Ibragimova LI, Ragimov MR, Nikonova TV. Autoimmune gastritis: comorbid pathology in type 1 diabetes. Diabetes mellitus. 2018 Dec 17;21(5):404–8] (in Russian). EDN: YPVINV. doi: 10.14341/dm9465
3. Bizzaro N, Antico A, Villalta D. Autoimmunity and Gastric Cancer. International Journal of Molecular Sciences. 2018 Jan 26;19(2):377. doi: 10.3390/ijms19020377
4. Bloomquist MS, Powell J, Masand RP, Dhall D, Karamchandani DM, Jain S. Lack of uniformity in reporting autoimmune gastritis among a diverse group of pathologists. Annals of Diagnostic Pathology. 2022 Feb;56:151840. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2021.151840
5. Hall SN, Appelman HD. Autoimmune Gastritis. Archives of Pathology & Laboratory Medicine. 2019 Nov;143(11):1327–31. doi: 10.5858/arpa.2019-0345-RA

6. Kidd M, Bodei L, Modlin IM. Chromogranin A. Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity. 2016 Feb;23(1):28–37. doi: 10.1097/med.0000000000000215
7. Rodriguez-Castro KI, Franceschi M, Miraglia C, Russo M, Nouvenne A, Leandro G, et al. Autoimmune diseases in autoimmune atrophic gastritis. Acta Biomed. 2018 Dec 17;89(8-S):100–3. doi: 10.23750/abm.v89i8-S.7919
8. Lahner E, Zagari RM, Zullo A, Di Sabatino A, Meggio A, Cesaro P, et al. Chronic atrophic gastritis: Natural history, diagnosis and therapeutic management. A position paper by the Italian Society of Hospital Gastroenterologists and Digestive Endoscopists [AIGO], the Italian Society of Digestive Endoscopy [SIED], the Italian Society of Gastroenterology [SIGE], and the Italian Society of Internal Medicine [SIMI]. Digestive and Liver Disease. 2019 Dec;51(12):1621–32. doi: 10.1016/j.dld.2019.09.016
9. Lenti MV, Rugge M, Lahner E, Miceli E, Toh B-H, Genta RM, et al. Autoimmune gastritis. Nature Reviews Disease Primers. 2020 Jul 9;6(1):56. doi: 10.1038/s41572-020-0187-8
10. Massironi S, Zilli A, Elvevi A, Invernizzi P. The changing face of chronic autoimmune atrophic gastritis: an updated comprehensive perspective. Autoimmunity Reviews. 2019 Mar;18(3):215–22. doi: 10.1016/j.autrev.2018.08.011
11. Miceli E, Brondino N, Lenti MV, Di Stefano M, Staiani M, Zugnoni F, et al. Impaired Quality of Life in Patients with Autoimmune Atrophic Gastritis. Digestive Diseases and Sciences. 2020 Oct 24;66(10):3322–9. doi: 10.1007/s10620-020-06656-x
12. Minalyan A, Benhammou JN, Artashesyan A, Lewis MS, Pisegna JR. Autoimmune atrophic gastritis: current perspectives. Clinical and Experimental Gastroenterology. 2017 Feb 7;10:19–27. doi: 10.2147/CEG.S109123
13. Neumann WL, Coss E, Rugge M, Genta RM. Autoimmune atrophic gastritis—pathogenesis, pathology and management. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 2013 Jun 18;10(9):529–41. doi: 10.1038/nrgastro.2013.101
14. Rustgi SD, Bijlani P, Shah SC. Autoimmune gastritis, with or without pernicious anemia: epidemiology, risk factors, and clinical management. Therapeutic Advances in Gastroenterology. 2021 Jan;14:175628482110387. doi: 10.1177/17562848211038771

Информация об авторах

✉ Нагорная Дарина Павловна – аспирант Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова. Ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4, Москва, 119435; ndp.msk@ya.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5907-6195>
Саркисян Сусанна Давитовна – студент;
neuroendocrinetumor2021@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6454-1370>
Васильева Ольга Вячеславовна – студент;
neuroendocrinetumor2021@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0726-5020>
Ильичева Ксения Андреевна – студент;
neuroendocrinetumor2021@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8870-6758>
Тертычный Александр Семенович – д-р мед. наук, профессор; atertychnyy@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5635-6100>

Information about the authors

✉ Darina P. Nagornaya – postgraduate student of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University. Ul. Bol'shaya Pirogovskaya, 2, str. 4, Moscow, 119435; ndp.msk@ya.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5907-6195>
Susanna D. Sarkisyan – student;
neuroendocrinetumor2021@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6454-1370>
Ol'ga V. Vasil'eva – student;
neuroendocrinetumor2021@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0726-5020>
Kseniya A. Il'icheva – student;
neuroendocrinetumor2021@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8870-6758>
Aleksandr S. Tertychnyi – Doct. Med. Sci., Prof.; atertychnyy@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5635-6100>

Статья поступила в редакцию 12.05.2022; одобрена после рецензирования 27.07.2022; принята к публикации 15.09.2022.
The article was submitted 12.05.2022; approved after reviewing 27.07.2022; accepted for publication 15.09.2022.