

## Характеристика клеточного состава иммунного микроокружения и его влияния на экспрессию генов при метапластических изменениях эпителия слизистой оболочки желудка

Ю.К. Слепов<sup>1</sup>, А.М. Емелин<sup>2</sup>, Р.В. Деев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия

### АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** Кишечная метаплазия эпителия слизистой оболочки желудка при хроническом атрофическом гастрите большинством авторов рассматривается как предраковое состояние, но при этом является потенциально обратимой. Изучение механизмов регуляции развития метапластических изменений эпителия может стать ключевым в понимании процесса канцерогенеза и профилактике развития рака.

**Цель исследования** — установить наличие или отсутствие взаимосвязи между микроокружением и развитием метаплазии эпителия слизистой оболочки желудка больных хроническим атрофическим гастритом путём оценки экспрессии генов и клеточного состава иммунного инфильтрата.

**Материалы и методы.** Проведено ретроспективное когортное исследование, альтернативной гипотезой которого является предположение о том, что состав иммунного микроокружения слизистой оболочки желудка различается в случаях с наличием и отсутствием метапластических изменений эпителия. Материалом для исследования послужили биоптаты слизистой оболочки ( $n=38$ ), полученные при эндоскопическом исследовании из пяти участков (2 из привратниковой пещеры, 2 из тела желудка, 1 из угловой вырезки) желудка у пациентов с хроническим атрофическим гастритом неуточнённой этиологии; а также результаты секвенирования РНК, выделенной из биоптатов больных хроническим гастритом, которые были получены из открытой базы данных NCBI ( $n=12$ ). В ходе работы применяли гистологический, гистохимический методы окрашивания, проводили иммуногистохимическое исследование, морфометрический, статистический и биоинформатический анализ.

**Результаты.** Установлено, что в образцах с метапластическими изменениями эпителия слизистой оболочки желудка увеличена доля макрофагов, Т-цитотоксических лимфоцитов и плазмочитов. Обнаружена взаимосвязь Т-цитотоксических лимфоцитов и шанса развития метаплазии. Установлено, что изменение количества Т-хелперов, Т-цитотоксических лимфоцитов, Т-регуляторных клеток и плазмочитов ассоциировано с изменением экспрессии пяти генов, наиболее специфичных для эпителия кишечного типа.

**Заключение.** Значительная разница в составе иммунного микроокружения между образцами с метапластическими изменениями эпителия слизистой оболочки и без них указывает на потенциальное влияние клеток иммунитета на развитие метаплазии и прогрессирование патологического процесса по каскаду Корреа. Одним из механизмов регуляции развития метаплазии микроокружением может являться его влияние на экспрессию генов как эпигенетического фактора.

**Ключевые слова:** хронический атрофический гастрит; эпителий слизистой оболочки желудка; метаплазия; канцерогенез; микроокружение; эпигенетическая регуляция.

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Слепов Ю.К., Емелин А.М., Деев Р.В. Характеристика клеточного состава иммунного микроокружения и его влияния на экспрессию генов при метапластических изменениях эпителия слизистой оболочки желудка // Морфология. 2023. Т. 161, № 4. С. XX–XX.  
DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.630350>

Рукопись получена: 15.04.2024 Рукопись одобрена: 24.05.2024 Опубликовано online: 17.06.2024

## Characterization of the immune microenvironment's cellular composition and its influence on gene expression during metaplastic changes of the gastric mucosa epithelium

Iurii. K. Slepov<sup>1</sup>, Aleksey. M. Emelin<sup>2</sup>, Roman. V. Deev<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

### ABSTRACT

**BACKGROUND:** Intestinal metaplasia of gastric mucosa epithelium in chronic atrophic gastritis is considered by most authors as a precancerous condition, but it is potentially reversible. The study of the regulation mechanisms of metaplastic epithelial changes development may become the key in understanding the process of carcinogenesis and prevention of cancer development.

**AIM:** To determine whether there is a relationship between microenvironment and development of metaplasia of gastric mucosa epithelium of patients with chronic atrophic gastritis by assessing gene expression and cellular composition of immune infiltrate.

**MATERIALS AND METHODS:** A retrospective cohort study, the alternative hypothesis of which is that the composition of the gastric mucosa immune microenvironment differs between cases with and without metaplastic changes in the epithelium. Biopsy specimens of the mucosa ( $n=38$ ) obtained during endoscopic examination from five sites (2 from the antrum, 2 from the body, 1 from the corner) of the stomach of patients with chronic atrophic gastritis of unspecified etiology, as well as the results of RNA sequencing isolated from biopsy specimens of patients with chronic gastritis obtained from the NCBI open database ( $n=12$ ) served as the material for the study. Histological, histochemical staining methods, immunohistochemical study were applied during the study. Morphometric, statistical and bioinformatic analyses were performed.

**RESULTS:** It was found that the proportion of macrophages, T-cytotoxic lymphocytes and plasmocytes was increased in the samples with metaplastic changes of the gastric mucosa epithelium. A correlation between T-cytotoxic lymphocytes and the chance of metaplasia development was found. It was found that changes in the number of T-helper cells, T-cytotoxic lymphocytes, T-regulatory cells and plasmocytes are associated with changes in the expression of five genes most specific for intestinal-type epithelium.

**CONCLUSIONS:** The significant difference in the composition of the immune microenvironment between samples with and without metaplastic changes in the mucosal epithelium indicates the potential influence of immune cells on the development of metaplasia and progression of the pathological process along the Correa cascade. One of the mechanisms of regulation of metaplasia development by microenvironment may be their influence on gene expression as an epigenetic factor.

**Keywords:** chronic atrophic gastritis; epithelium of gastric mucosa; metaplasia; carcinogenesis; cellular microenvironment; epigenetic processes.

### TO CITE THIS ARTICLE:

Slepov IK, Emelin AM, Deev RV. Characterization of the immune microenvironment's cellular composition and its influence on gene expression during metaplastic changes of the gastric mucosa epithelium. *Morphology*. 2023;161(4):XX–XX. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.630350>

Received: 15.04.2024 Accepted: 24.05.2024 Published: 17.06.2024

Article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License  
© Eco-Vector, 2023

### ОБОСНОВАНИЕ

Кишечная метаплазия в желудке — это процесс, характеризующийся прогрессирующей заменой эпителия слизистой оболочки желудка кишечным эпителием, который может быть представлен абсорбирующими клетками, бокаловидными клетками и клетками Панета. Основой для такого нарушения тканевого гомеостаза выступают воспаление и атрофия, которые наиболее часто являются результатом хронического атрофического гастрита разной этиологии [1]. Особый интерес к кишечной метаплазии объясняется тем, что, являясь предполагаемым предраковым состоянием, метаплазия тем не менее остаётся обратимой при своевременном обнаружении и назначении адекватного лечения [2]. На клеточном уровне данный процесс может быть рассмотрен как изменение направления дифференцировки стволовых клеток эпителия слизистой оболочки желудка, обеспечивающих регенерацию после повреждения. Это является нарушением физиологической регенерации, протекающей как естественный процесс обновления эпителия. Она включает в себя пролиферацию, биполярную миграцию из области перешейка железы и одновременную дифференцировку стволовых клеток. Данные процессы регулируются в том числе транскрипционным фактором Notch и сигнальным путем Wnt/b-catenin [3]. Как при физиологической, так и при патологической регенерации итоговый фенотип клетки определяется экспрессией тех или иных генов, которая находится под жёсткой регуляцией различных эпигенетических факторов. Наиболее пристальное внимание сейчас уделяется метилированию ДНК, некодирующим РНК и микроокружению, которое включает внеклеточный матрикс, фибробласты, иммунные клетки, а также цитокины, гормоны и другие биоактивные молекулы.

Показано, что при метапластических изменениях эпителия слизистой оболочки желудка существенно изменяется ландшафт метилирования [4]. Более 14 000 CpG-регионов были гиперметилированы и 1199 — гипометилированы в образцах с кишечной метаплазией по сравнению с образцами без данного процесса. При этом, несмотря на изменение метилирования промоторов, экспрессия была изменена только в 15 генах при гиперметилировании и в 13 генах — при гипометилировании. Особенно интересным является тот факт, что гиперметилирование промотора гена *CDX2* — транскрипционного фактора, участвующего в формировании кишки в ходе эмбриогенеза, — не повлияло на его экспрессию, которая оставалась повышенной более чем в 2 раза.

Среди некодирующих (нетранслирующихся) РНК наиболее изучены изменения в экспрессии микроРНК (miRNA) при метапластических изменениях эпителия слизистой оболочки желудка. Выявлено повышение количества miRNA-146a и miRNA-155 в образцах с кишечной метаплазией [5]. В другом исследовании показана повышенная экспрессия miRNA-92a-1-5p, которая оказывает ингибирующее влияние на *FOXD1*, чем увеличивает экспрессию ранее упоминавшегося транскрипционного фактора *CDX2* [6]. К числу miRNA, чья экспрессия была повышенной при желудочно-кишечной метаплазии, также относится кластер miR-17-92, включающий семь miRNA [7], а также miRNA-584 и miRNA-1290 [8].

Тканевое микроокружение как эпигенетический фактор на текущий момент изучено гораздо меньше. Макрофаги фенотипа M2 (CD163<sup>+</sup>) исследованы в мышинной модели с вызванным с помощью клодроната дефицитом макрофагов и предложены в качестве фактора, стимулирующего развитие метаплазии с экспрессией спазмолитического пептида [9]. Изучались также фибробласты как один из регуляторных элементов, участвующих в дифференцировке клеток. Показано, что через регуляцию экспрессии гена *SHH* фибробласты способствуют прогрессированию патологического процесса в желудке по каскаду Корреа — через атрофию и метаплазию к раку желудка [10].

Несмотря на указанные исследования, на текущий момент взаимосвязь микроокружения и изменений в экспрессии генов, определяющих приобретение эпителием желудка кишечного фенотипа, остаётся недостаточно изученной. Обзорные данные о роли Т-клеточного звена иммунитета в канцерогенезе свидетельствуют, что его участие в регуляции регенерации может быть ключевым и проявляться нарушением процесса дифференцировки, что ведёт к развитию атонии [11]. Рассматривая метаплазию как первый этап этого пути, можно предположить вовлечённость Т-лимфоцитов и в данный процесс.

**Цель исследования** — определить различия в составе иммунного инфильтрата в образцах ткани желудка с кишечной метаплазией и без неё, а также установить взаимосвязь между иммунным микроокружением и экспрессией генов, используя биоинформатические инструменты для анализа ранее опубликованных транскриптомов, находящихся в открытом доступе.

Альтернативной гипотезой является предположение о том, что состав иммунного микроокружения слизистой оболочки желудка при хроническом атрофическом гастрите различается в случаях с наличием и отсутствием метапластических изменений эпителия.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено наблюдательное, одномоментное, контролируемое, нерандомизированное, одноцентровое исследование.

Объектом послужили биоптаты слизистой оболочки (38 образцов), полученные при эндоскопическом исследовании из пяти участков (2 из привратниковой пещеры, 2 из тела желудка, 1 из угловой вырезки) желудка у пациентов с хроническим атрофическим гастритом неустановленной этиологии. Гистологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследования проведены на парафиновых срезах с наиболее выраженными атрофическими или метапластическими изменениями каждого отдельно взятого случая. При наличии метаплазии только в одном из участков для дальнейшего анализа брался именно он.

Оценка атрофии и метаплазии выполнена при окраске срезов гематоксилином и эозином с добавлением альцианового синего. Атрофию определяли как уменьшение количества желёз, свойственных данной зоне слизистой оболочки желудка [12], метаплазию — как наличие желёз, содержащих клетки, характерные для кишечного эпителия. Полную и неполную метаплазию разграничивали по наличию/отсутствию клеток Панета. Пилорическую метаплазию тела желудка не оценивали в ходе данного исследования. Принадлежность угловой вырезки желудка к телу желудка или привратниковой пещере определяли по преобладающему фенотипу желёз.

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Фенотипирование клеток инфильтрата выполняли с помощью иммуногистохимического исследования. Срезы толщиной 1 мкм выдерживали в гермостате при температуре 60 °С в течение 60 мин. После депарафинизации в ксилоле и спиртах возрастающей концентрации срезы кипятили в 0,01 М цитратном буфере в течение 30 мин. Затем их промывали в PBS и в растворе пероксида водорода для блокировки эндогенной пероксидазы в течение 30 мин при температуре 30 °С. После срезы с первичными антителами (все производства Sigma-Aldrich, США) к CD4 (104R-24, кроличьи моноклональные антитела); CD8 (108M-94, мышинные моноклональные антитела), CD20 (120M-84, мышинные моноклональные антитела), CD138 (138M-14, кроличьи моноклональные антитела), CD68 (168M-94, мышинные моноклональные антитела) выдерживали в термостате при температуре 30 °С в течение 60 мин. После инкубации со вторичным антителом в течение 30 мин и пероксидазой хрена в течение 20 мин проводили реакцию с диаминобензидином и окрашивали срезы гематоксилином. Оценивали мембранное окрашивание, которое описывали как отсутствие или наличие реакции. Для положительного контроля использовали срезы лимфатических узлов, в качестве отрицательного контроля рассматривали эпителии слизистой оболочки желудка в срезах, на которых проводилось исследование.

## МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Для каждого препарата оценивали 10 случайных полей зрения при  $\times 200$ . Подсчёт клеток проводили отдельно в строме и эпителии желёз. Число позитивных клеток стромы выражалось как доля от общего числа клеток инфильтрата в одном поле зрения. Число интраэпителиальных позитивных клеток выражалось в единицах на 100 клеток эпителия желёз. Для дальнейшего анализа рассчитывали среднее значение в каждом образце и для каждого антигена. Стадия атрофии рассчитывалась на основе критериев OLGA [13] для одной локализации, из которой был взят образец.

## СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Статистический анализ выполнен с использованием языка программирования R в среде разработки RStudio v. 4.3.1. Сравнение групп по полу проводили с использованием теста Хи-квадрат, по возрасту — с использованием теста Вилкоксона с поправкой на множественные сравнения Холма. Сравнение иммунного инфильтрата в трёх группах выполняли также с использованием критерия Вилкоксона с поправкой на множественные сравнения Холма. Для определения взаимосвязи между развитием кишечной метаплазии и клеточным составом иммунного микроокружения использовали модель обобщённой линейной регрессии с бинарным откликом.

## БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Результаты РНК-секвенирования ткани желудка больных хроническим гастритом с метаплазией ( $n=12$ ) и без метаплазии ( $n=12$ ) были загружены из базы NCBI (GSE191275) [14]. РНК выделяли из ткани желудка, полученной в результате гастрэктомии или биопсии при гастроскопии. Для



каждого пациента диагноз был предварительно верифицирован врачом-патологоанатомом. Образцы ткани инкубировали в RNAlater (Invitrogen, США) при 4 °С в течение ночи, в дальнейшем хранили при –80 °С. После выделения и очищения с помощью реагента TRIzol (Invitrogen, США) РНК фрагментировали и проводили обратную транскрипцию. Полученную кДНК амплифицировали методом ПЦР и секвенировали на аппарате Illumina Novaseq 6000 (LC-Bio Technologies CO., Китай).

Для анализа дифференциальной экспрессии между группами использовали программное обеспечение R v. 4.3.1, пакет DESeq2 v. 1.42.0 [15]. Функциональный анализ выполняли с использованием пакета R clusterProfiler v. 4.10.0 [16]. Для восстановления тканевого микроокружения применяли веб-версию Kassandra [17]. Для определения взаимосвязи между составом иммунного инфильтрата и дифференциальной экспрессией генов использовали LAD-регрессионную модель.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТЧНОГО СОСТАВА МИКРООКРУЖЕНИЯ

Всего проанализировано 38 случаев хронического атрофического гастрита. Все пациенты проходили лечение в амбулаторных условиях. В зависимости от морфологических изменений слизистой оболочки желудка они были разделены на три группы, сопоставимые по полу и возрасту ( $p > 0,05$ ): в 19 случаях были определены метапластические изменения эпителия слизистой оболочки желудка (10 случаев полной (тонкокишечной) метаплазии, 9 случаев неполной (толстокишечной) метаплазии), в 19 случаях кишечная метаплазия отсутствовала. В зависимости от числа желёз и их структуры в 4 случаях установлена атрофия I стадии, в 14 — II стадии, в 13 — III стадии, в 7 — IV стадии. Соотношения стадий атрофии и степени воспаления внутри групп представлены на [рис. 1](#).

При оценке состава микроокружения количество интраэпителиально расположенных клеток оказалось недостаточным для проведения статистического анализа (~0,1% для каждого фенотипа клеток в одном образце), поэтому они были исключены из исследования. Медиана и межквартильный размах доли стромальных клеток каждого фенотипа в различных группах представлены в [табл. 1](#).

Таблица 1. Медиана и межквартильный размах (IQR) доли различных клеток в каждой группе, %

Table 1. Median and interquartile range (IQR) of the proportion of different cells in each group, %

Субпопуляция клеток	Показатель	Группа без метаплазии эпителия (n=19)	Группа с полной метаплазией эпителия (n=10)	Группа с неполной метаплазией эпителия (n=9)
CD68	Медиана	4,6	19,5	6,1
	IQR	1,85	7,1725	7,1
CD4	Медиана	8,50	9,85	11,80
	IQR	5,25	3,05	12,50
CD8	Медиана	17,7	35,4	26,7
	IQR	3,8	8,4	5,8
CD20	Медиана	13,2	15,95	15,1

	IQR	9,35	13,375	6,0
CD138	Медиана	2,8	5,25	16,7
	IQR	2,55	3,825	3,9

В каждой группе образцов наибольшую долю составляли Т-цитотоксические лимфоциты. Наименьшее значение было обнаружено для плазмочитов в группах без метаплазии и с полной метаплазией, для макрофагов — в группе с неполной метаплазией. Для определения различий в составе клеточного микроокружения между группами использовали тест Вилкоксона. Статистически значимые различия обнаружены в долях Т-цитотоксических лимфоцитов, макрофагов и плазмочитов. Распределение данных и микрофотографии образцов из групп, для которых обнаружены статистически значимые различия, представлены на [рис. 2](#). Репрезентативные микрофотографии представлены на [рис. 3](#).

Для определения влияния различных фенотипов клеток иммунного инфильтрата на шанс развития метаплазии построена модель обобщённой линейной регрессии с бинарным откликом. Статистически значимые результаты показала модель с клетками CD8<sup>+</sup> в качестве единственного предиктора. По результатам регрессионного анализа увеличение доли Т-цитотоксических лимфоцитов ассоциировано с увеличением шанса развития метаплазии в 2,35 раза ( $p=0,022$ ).

#### АНАЛИЗ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

С целью обнаружения генов, экспрессия которых изменяется при развитии метаплазии эпителия слизистой оболочки желудка, проведён анализ дифференциальной экспрессии генов. Проверку качества образцов выполняли с помощью анализа главных компонент. Удалено 8 транскриптомов, что может быть объяснено наличием промежуточных фенотипов. В 12 образцах обнаружено 3118 генов с изменением экспрессии более чем в 1,5 раза в группе метаплазии (приложение 1), из которых 1843 гена с повышенной экспрессией и 1275 — с пониженной ([рис. 4](#)). Иерархический кластерный анализ показал наличие двух паттернов генов, экспрессия которых отличается между группами и позволяет разделить образцы на два кластера ([рис. 5](#)). 10 генов с наиболее повышенной экспрессией представлены в [табл. 2](#).

**Таблица 2. Результаты анализа дифференциальной экспрессии генов для 10 генов с наименьшими значениями скорректированного значения  $p$**

**Table 2. Results of differential gene expression analysis for the 10 genes with the lowest adjusted  $p$  values**

Ген	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	$p$	$p_{adj}$
<i>MUC2</i>	4952,58	11,58	0,39	$8,30e^{-193}$	$9,71e^{-189}$
<i>MYO7B</i>	1733,83	7,08	0,28	$2,82e^{-139}$	$2,20e^{-135}$
<i>CDH17</i>	5445,62	8,07	0,33	$4,21e^{-131}$	$2,46e^{-127}$
<i>FABP1</i>	7913,15	10,26	0,46	$4,17e^{-112}$	$1,95e^{-108}$
<i>CLDN3</i>	324,80	5,13	0,24	$1,69e^{-100}$	$6,57e^{-97}$
<i>CDX1</i>	624,62	9,05	0,44	$7,85e^{-94}$	$2,62e^{-90}$
<i>SPINK4</i>	1303,95	9,31	0,46	$7,45e^{-92}$	$2,18e^{-88}$
<i>HEPH</i>	1985,93	5,50	0,27	$3,97e^{-90}$	$1,03e^{-86}$
<i>SLC39A5</i>	641,22	5,34	0,27	$5,24e^{-86}$	$1,23e^{-82}$
<i>OTOP3</i>	366,19	7,02	0,36	$1,36e^{-85}$	$2,90e^{-82}$

Примечание:  $p_{adj}$  — значение  $p$ , с поправкой на множественные сравнения, baseMean — среднее значение нормализованных каунтов для всех образцов, log2FoldChange — двоичный логарифм кратности изменения экспрессии генов в группе метаплазии, lfcSE — стандартная ошибка значения log2FoldChange.

Note:  $p_{adj}$  —  $p$  value, adjusted for multiple comparisons, baseMean — mean of normalized counts for all samples, log2FoldChange — log2 of the fold change in gene expression in the metaplasia group, lfcSE — standard error of log2FoldChange.

Функциональный анализ выполнен с помощью словаря Gene Ontology [18]. Определялись биологические процессы, молекулярные функции и клеточные компоненты, задействующие

гены, экспрессия которых отличается в группе метаплазии. Всего выявлено 787 биологических процессов, 128 молекулярных функций и 69 клеточных компонентов (приложение 2). По результатам анализа наибольшее количество обнаруженных генов с повышенной экспрессией в группе метаплазии были задействованы в метаболических процессах и иммунном ответе. 10 паттернов, задействующих наибольшее количество генов, отображены на рис. 6 для каждой из групп.

Для определения взаимосвязи доли клеток различного фенотипа и экспрессии генов проведена деконволюция состава микроокружения на основе полученных транскриптомов (рис. 7). Из 10 генов, для которых обнаружена наибольшая гиперэкспрессия в группе кишечной метаплазии, были выбраны 6 ассоциированных с кишечным фенотипом эпителия. Для каждого из них построена LAD-регрессионная модель. В качестве предикторов использовались все фенотипы клеток иммунного микроокружения кроме нейтрофилов, так как их наличие характерно для острого воспалительного процесса (приложение 3).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Канцерогенез можно рассмотреть как ряд последовательных событий, ведущих к приобретению клетками биологических признаков рака, которые морфологически определяются как инвазивный рост, а также тканевый и клеточный атипизм. Для рака желудка цепь состояний, соединяющая нормальную ткань и опухолевую, была представлена Пелайо Корреа. Она включает в себя атрофию, метаплазию и дисплазию [19]. Каждое из этих состояний морфологически подразделяется на несколько этапов развития. В случае атрофии выделяются стадии, метаплазии — типы, дисплазии — грейды [20]. Такое разделение направлено не только на диагностику стадии заболевания, но и на определение его злокачественного потенциала [21]. Например, было показано, что толстокишечный тип обладает наибольшим потенциалом к малигнизации среди метапластических изменений эпителия желудка [22].

В нашей работе при анализе тканевого микроокружения обнаружены отличия для макрофагов, Т-цитотоксических лимфоцитов и плазмоцитов. Доля макрофагов была выше в группе полной метаплазии по сравнению с группой без метаплазии. Эти данные согласуются с результатами исследования В. Song с соавт. [23], где дополнительно было показано, что увеличение доли макрофагов происходит преимущественно за счёт фенотипа M0, который принято рассматривать как неполяризованные макрофаги. С.Р. Petersen с соавт. в работе [24] показали, что блокада экспрессии IL-33 и IL-13 на мышинной модели снижает частоту возникновения метаплазии с экспрессией спазмолитического пептида, уменьшая количество макрофагов M2a. Этот тип метаплазии многими авторами рассматривается как предшественник кишечной. Точные механизмы, которые объясняли бы, как макрофаги могут регулировать развитие метаплазии, неизвестны. Предполагается их влияние на экспрессию таких генов, как *TFF3*, *CFTR* и *DMBT1* [9].

Обнаружено также увеличение доли Т-цитотоксических лимфоцитов в группах с полной и неполной метаплазией по сравнению с группой без неё. На текущий момент нет литературных данных, подтверждающих эти результаты. Напротив, в исследовании N. Ohtani с соавт. [25] получены противоположные результаты, показывающие уменьшение количества Т-цитотоксических лимфоцитов по мере развития метаплазии. Тем не менее результаты регрессионного анализа, проведённого как для факта развития метаплазии, так и для экспрессии 10 наиболее гиперэкспрессированных генов в группе с метаплазией, показывают значимость этого фенотипа иммунных клеток. Различия в результатах могут быть объяснены тем, что N. Ohtani с соавт. [25] не рассматривали контрольную группу без метаплазии, а сравнивали разные степени тяжести этого процесса — среднюю и тяжёлую. С другой стороны, это позволяет сделать предположение, что Т-цитотоксические лимфоциты важны на ранних этапах нарушения дифференцировки клеток в ходе регенерации. Вопрос о конкретных механизмах остаётся открытым. Можно также предположить, что основную роль играет прямое цитотоксическое действие на повреждённые клетки эпителия, увеличивающее объём регенерации ткани.

Другим фенотипом клеток, для которых была показана разница между группами с метаплазией эпителия и группой без метаплазии, являются плазмоциты. Схожие результаты получены R. Wang с соавт. [26]. Ими показано, что преобладание доли секретирующих IgA плазмоцитов наиболее часто встречается в предраковых поражениях эпителия желудка по сравнению с нормальным эпителием и раком.

Одним из маркёров развития кишечной метаплазии эпителия слизистой оболочки желудка служит секреция бокаловидными клетками муцинов — высокомолекулярных гликопротеинов, образующих нерастворимый слизистый барьер. Их основная роль заключается в защите эпителия слизистой оболочки кишки от кислого содержимого, поступающего из желудка. Одним из способов разграничения тонко- и толстокишечной метаплазии, не применяемым в рутинной клинической практике, является иммуногистохимическая реакция с антителами к муцинам: MUC2 характерен для полной метаплазии; MUC2, MUC5AC и MUC6 — для толстокишечной метаплазии [27]. В этом исследовании обнаружено, что *MUC2* являлся геном с наибольшим преобладанием экспрессии в группе с метаплазией. Данный ген задействован в 11 биологических процессах, 2 клеточных компонентах и молекулярных функциях, которые выявлены как обогащённые в нашем анализе. Интересным оказался тот факт, что *MUC2* задействован в биологическом процессе «ответ на токсические субстанции», определяемом авторами Gene Ontology как «процесс, приводящий к изменению состояния или активности клетки или организма (с точки зрения движения, секреции, выработки ферментов, экспрессии генов и т.д.) в результате токсического раздражителя». Это объясняет гиперэкспрессию *MUC2* как ответ на повышенную кислотность содержимого желудка и нарушение слизистого барьера, что часто возникает на фоне гастрита, вызванного *H. pylori* [28].

Другим геном, продукт которого обладает высокой специфичностью для кишечного эпителия и экспрессия которого была значительно повышена в группе кишечной метаплазии, является *MYO7B*. Он кодирует белок, входящий в состав микроворсинок щёточной каёмки энтероцитов [29].

Обнаружена также увеличенная экспрессия гена *CDH17* в группе метаплазии. Его продукт является известным белком межклеточных контактов, выполняя тем самым структурную функцию и поддерживая архитектуру слизистой оболочки кишки. Кроме того, он участвует в транспорте пептидов через кишечную стенку [30]. Стоит отметить, что *CDH17* необходим также для выживания В-клеток памяти [31]. Из 17 обнаруженных биологических процессов, в которых задействован *CDH17*, 11 были связаны с иммунным ответом; 5 из них отвечали за регуляцию дифференцировки и выживания В-клеток.

Одна из основных функций кишечника — транспорт веществ. *HEPN* и *SLC39A5* — гены, чьи продукты отвечают за всасывание минералов из просвета кишки. Их экспрессия также была значительно повышена в группе метаплазии по результатам нашего анализа. Это отражает значительное изменение белкового состава апикальной мембраны метапластически изменённых клеток желудка.

*CDX1* — ген, кодирующий транскрипционный фактор, который регулирует экспрессию генов, специфичных для тонкой и толстой кишки. Его экспрессия характерна исключительно для клеток кишечника различного фенотипа [32]. Показано, что она коррелирует с тяжестью метаплазии, а также последовательно увеличивается при движении по каскаду Корреа от метаплазии к дисплазии и раку желудка [33].

В ходе регрессионного анализа обнаружена статистически значимая взаимосвязь всех шести генов, специфичных для кишечного эпителия. Наиболее часто увеличение экспрессии генов в группе метаплазии ассоциировано с увеличением доли макрофагов фенотипа M2, В-лимфоцитов, Т-регуляторных лимфоцитов и НК-клеток. Стоит отметить, что в современных исследованиях Т-регуляторные лимфоциты рассматривают чаще как мишень для эпигенетической регуляции, чем её источник. Результаты текущего исследования показывают обратное. Эти данные косвенно подтверждаются результатами исследований В. Kindlund с соавт. [34] и ранее упоминавшегося В. Song с соавт. [23], в которых обнаружено увеличение количества Т-регуляторных клеток при развитии метаплазии.

Точные механизмы, с помощью которых клетки иммунного микроокружения способны влиять на экспрессию генов в эпителиальных клетках, неизвестны. Тем не менее можно предположить значительное участие в этом секретлируемого ими TGF- $\beta$ , который, взаимодействуя с одноимёнными рецепторами на поверхности клеток, способен активировать транскрипционный фактор SMAD, регулирующий экспрессию генов. Данная гипотеза подтверждается результатами работы А. Negovan с соавт. [35], которые показали, что мутация TGF- $\beta$ 1 снижает частоту развития кишечной метаплазии на фоне хронического атрофического гастрита.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ



Результаты анализа показывают значительную вовлечённость клеточного иммунного микроокружения в процесс развития метаплазии. Можно предположить, что это происходит преимущественно за счёт эпигенетического влияния на экспрессию генов клеток эпителия слизистой оболочки желудка в процессе регенерации на фоне хронического повреждения. Однако не исключается роль других эпигенетических процессов, таких как изменение конформации хроматина и профиля топологически ассоциированных доменов, в регуляции дифференцировки. Кроме того, на текущий момент нет точных данных, определяющих механизмы воздействия иммунных клеток на экспрессию генов эпителия. Дальнейшие исследования в области эпигенетики и молекулярной биологии могут пролить свет на процессы, лежащие в основе нарушения направления дифференцировки клеток желудка, называемого метаплазией.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: Ю.К. Слепов — сбор и анализ литературы, биоинформатический анализ, морфологический и морфометрический анализ, подготовка и написание текста статьи; А.М. Емелин — иммуногистохимическое исследование образцов; Р.В. Деев — курация и контроль качества исследования.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Authors' contribution.** All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. I.K. Slepov — collection and analysis of literature, bioinformatics analysis, morphological and morphometric analysis, preparation and writing of the article, A.M. Emelin — immunohistochemical study of samples; R.V. Deev — supervision and quality control of the study.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Goldenring J.R., Mills J.C. Cellular plasticity, reprogramming, and regeneration: metaplasia in the stomach and beyond // *Gastroenterology*. 2022. Vol. 162, N 2. P. 415–430. doi: 10.1053/j.gastro.2021.10.036
2. Banks M., Graham D., Jansen M., et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of patients at risk of gastric adenocarcinoma // *Gut*. 2019. Vol. 68, N 9. P. 1545–1575. doi: 10.1136/gutjnl-2018-318126
3. Wizenty J., Tacke F., Sigal M. Responses of gastric epithelial stem cells and their niche to *Helicobacter pylori* infection // *Ann Transl Med*. 2020. Vol. 8, N 8. P. 568. doi: 10.21037/atm.2020.02.178
4. Fritsche K., Boccellato F., Schlaermann P., et al. DNA methylation in human gastric epithelial cells defines regional identity without restricting lineage plasticity // *Clin Epigenetics*. 2022. Vol. 14, N 1. P. 193. doi: 10.1186/s13148-022-01406-4
5. Cortés-Márquez A.C., Mendoza-Elizalde S., Arenas-Huerta F., et al. Differential expression of miRNA-146a and miRNA-155 in gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection in paediatric patients, adults, and an animal model // *BMC Infect Dis*. 2018. Vol. 18, N 1. P. 463. doi: 10.1186/s12879-018-3368-2

6. Li T., Guo H., Li H., et al. MicroRNA-92a-1-5p increases CDX2 by targeting FOXD1 in bile acids-induced gastric intestinal metaplasia // *Gut*. 2019. Vol. 68, N 10. P. 1751–1763. doi: 10.1136/gutjnl-2017-315318
7. Li H., Wu Q., Li T., et al. The miR-17-92 cluster as a potential biomarker for the early diagnosis of gastric cancer: evidence and literature review // *Oncotarget*. 2017. Vol. 8, N 28. P. 45060–45071. doi: 10.18632/oncotarget.15023
8. Zhu Y., Jiang Q., Lou X., et al. MicroRNAs up-regulated by CagA of *Helicobacter pylori* induce intestinal metaplasia of gastric epithelial cells // *PLoS One*. 2012. Vol. 7, N 4. P. e35147. doi: 10.1371/journal.pone.0035147
9. Petersen C.P., Weis V.G., Nam K.T., et al. Macrophages promote progression of spasmodic polypeptide-expressing metaplasia after acute loss of parietal cells // *Gastroenterology*. 2014. Vol. 146, N 7. P. 1727–38. doi: 10.1053/j.gastro.2014.02.007
10. Konstantinou D., Bertaux-Skeirik N., Zavros Y. Hedgehog signaling in the stomach // *Curr Opin Pharmacol*. 2016. Vol. 31. P. 76–82. doi: 10.1016/j.coph.2016.09.003
11. Слепов Ю.К., Лаушкин М.А., Деев Р.В. Гипотеза о роли иммунной системы в канцерогенезе // *Гены и клетки*. 2021. Т. 16, № 1. С. 82–91. EDN: KQUADU doi: 10.23868/202104013
12. Аруин Л.И., Кононов А.В., Мозговой С.И. Новая классификация хронического гастрита. Омск: Д-Графикс, 2009. 18 с. EDN: YNHUJF
13. Rugge M., Correa P., Di Mario F., et al. OLGA staging for gastritis: a tutorial // *Dig Liver Dis*. 2008. Vol. 40, N 8. P. 650–658. doi: 10.1016/j.dld.2008.02.030
14. Li A., Li Y., Li Y., et al. Identification and validation of key genes associated with pathogenesis and prognosis of gastric cancer // *PeerJ*. 2023. Vol. 11. P. e16243. doi: 10.7717/peerj.16243
15. Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 // *Genome Biol*. 2014. Vol. 15, N 12. P. 550. doi: 10.1186/s13059-014-0550-8
16. Wu T., Hu E., Xu S., et al. clusterProfiler 4.0: a universal enrichment tool for interpreting omics data // *Innovation (Camb)*. 2021. Vol. 2, N 3. P. 100141. doi: 10.1016/j.xinn.2021.100141
17. Zaitsev A., Chelushkin M., Dyikanov D., et al. Precise reconstruction of the TME using bulk RNA-seq and a machine learning algorithm trained on artificial transcriptomes // *Cancer Cell*. 2022. Vol. 40, N 8. P. 879–894. doi: 10.1016/j.ccell.2022.07.006
18. <https://geneontology.org/> [Internet]. Gene ontology resource. Режим доступа: <https://geneontology.org/> Дата обращения: 25.03.2024.
19. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process — First American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention // *Cancer Res*. 1992. Vol. 52, N 24. P. 6735–6740.
20. Pennelli G., Grillo F., Galuppini F., et al. Gastritis: update on etiological features and histological practical approach // *Pathologica*. 2020. Vol. 112, N 3. P. 153–165. doi: 10.32074/1591-951X-163
21. Huang R.J., Choi A.Y., Truong C.D., et al. Diagnosis and management of gastric intestinal metaplasia: current status and future directions // *Gut Liver*. 2019. Vol. 13, N 6. P. 596–603. doi: 10.5009/gnl19181
22. Piazzuelo M.B., Bravo L.E., Mera R.M., et al. The Colombian Chemoprevention Trial: 20-year follow-up of a cohort of patients with gastric precancerous lesions // *Gastroenterology*. 2021. Vol. 160, N 4. P. 1106–1117. doi: 10.1053/j.gastro.2020.11.017
23. Song B., Li T., Zhang Y., et al. Identification and verification of ferroptosis-related genes in gastric intestinal metaplasia // *Front Genet*. 2023. Vol. 14. P. 1152414. doi: 10.3389/fgene.2023.1152414

24. Petersen C.P., Meyer A.R., De Salvo C., et al. A signalling cascade of IL-33 to IL-13 regulates metaplasia in the mouse stomach // *Gut*. 2018. Vol. 67, N 5. P. 805–817. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312779
25. Ohtani N., Ohtani H., Nakayama T., et al. Infiltration of CD8+ T cells containing RANTES/CCL5+ cytoplasmic granules in actively inflammatory lesions of human chronic gastritis // *Lab Invest*. 2004. Vol. 84, N 3. P. 368–375. doi: 10.1038/labinvest.3700039
26. Wang R., Song S., Qin J., et al. Evolution of immune and stromal cell states and ecotypes during gastric adenocarcinoma progression // *Cancer Cell*. 2023. Vol. 41, N 8. P. 1407–1426. doi: 10.1016/j.ccell.2023.06.005
27. Battista S., Ambrosio M.R., Limarzi F., et al. Molecular alterations in gastric preneoplastic lesions and early gastric cancer // *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22, N 13. P. 6652. doi: 10.3390/ijms22136652
28. Kusters J.G., van Vliet A.H., Kuipers E.J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection // *Clin Microbiol Rev*. 2006. Vol. 19, N 3. P. 449–490. doi: 10.1128/CMR.00054-05
29. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [Internet]. NCBI. MYO7B myosin VIIb [Homo sapiens (human)]. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4648#gene-expression> Дата обращения: 25.03.2024.
30. <https://www.uniprot.org/> [Internet]. UniProt. Режим доступа: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q12864/entry#function> Дата обращения: 25.03.2024.
31. Funakoshi S., Shimizu T., Numata O., et al. BILL-cadherin/cadherin-17 contributes to the survival of memory B cells // *PLoS One*. 2015. Vol. 10, N 1. P. e0117566. doi: 10.1371/journal.pone.0117566
32. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [Internet]. NCBI. CDX1 caudal type homeobox 1 [Homo sapiens (human)]. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1044#summary> Дата обращения: 25.03.2024.
33. Kang J.M., Lee B.H., Kim N., et al. CDX1 and CDX2 expression in intestinal metaplasia, dysplasia and gastric cancer // *J Korean Med Sci*. 2011. Vol. 26, N 5. P. 647–653. doi: 10.3346/jkms.2011.26.5.647
34. Kindlund B., Sjöling A., Hansson M., et al. FOXP3-expressing CD4(+) T-cell numbers increase in areas of duodenal gastric metaplasia and are associated to CD4(+) T-cell aggregates in the duodenum of *Helicobacter pylori*-infected duodenal ulcer patients // *Helicobacter*. 2009. Vol. 14, N 3. P. 192–201. doi: 10.1111/j.1523-5378.2009.00673.x
35. Negovan A., Iancu M., Tripon F., et al. Cytokine TGF- $\beta$ 1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-6 gene polymorphisms and localization of premalignant gastric lesions in immunohistochemically H. pylori-negative patients // *International Journal of Medical Sciences*. 2021. Vol. 18, N 12. P. 2743–2751. doi: 10.7150/ijms.60517

## REFERENCES

1. Goldenring JR, Mills JC. Cellular plasticity, reprogramming, and regeneration: metaplasia in the stomach and beyond. *Gastroenterology*. 2022;162(2):415–430. doi: 10.1053/j.gastro.2021.10.036
2. Banks M, Graham D, Jansen M, et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of patients at risk of gastric adenocarcinoma. *Gut*. 2019;68(9):1545–1575. doi: 10.1136/gutjnl-2018-318126
3. Wizenty J, Tacke F, Sigal M. Responses of gastric epithelial stem cells and their niche to *Helicobacter pylori* infection. *Ann Transl Med*. 2020;8(8):568. doi: 10.21037/atm.2020.02.178
4. Fritsche K, Boccellato F, Schlaermann P, et al. DNA methylation in human gastric epithelial cells defines regional identity without restricting lineage plasticity. *Clin Epigenetics*. 2022;14(1):193. doi: 10.1186/s13148-022-01406-4

5. Cortés-Márquez AC, Mendoza-Elizalde S, Arenas-Huertero F, et al. Differential expression of miRNA-146a and miRNA-155 in gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection in paediatric patients, adults, and an animal model. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):463. doi: 10.1186/s12879-018-3368-2
6. Li T, Guo H, Li H, et al. MicroRNA-92a-1-5p increases CDX2 by targeting FOXD1 in bile acids-induced gastric intestinal metaplasia. *Gut*. 2019;68(10):1751–1763. doi: 10.1136/gutjnl-2017-315318
7. Li H, Wu Q, Li T, et al. The miR-17-92 cluster as a potential biomarker for the early diagnosis of gastric cancer: evidence and literature review. *Oncotarget*. 2017;8(28):45060–45071. doi: 10.18632/oncotarget.15023
8. Zhu Y, Jiang Q, Lou X, et al. MicroRNAs up-regulated by CagA of *Helicobacter pylori* induce intestinal metaplasia of gastric epithelial cells. *PLoS One*. 2012;7(4):e35147. doi: 10.1371/journal.pone.0035147
9. Petersen CP, Weis VG, Nam KT, et al. Macrophages promote progression of spasmodic polypeptide-expressing metaplasia after acute loss of parietal cells. *Gastroenterology*. 2014;146(7):1727–38.e8. doi: 10.1053/j.gastro.2014.02.007
10. Konstantinou D, Bertaux-Skeirik N, Zavros Y. Hedgehog signaling in the stomach. *Curr Opin Pharmacol*. 2016;31:76–82. doi: 10.1016/j.coph.2016.09.003
11. Slepov YK, Laushkin MA, Deev RV. The hypotheses of the immune system's role in carcinogenesis *Genes & cells*. 2021;16(1):82–91. EDN: KQUADU doi: 10.23868/202104013
12. Aruin LI, Kononov AV, Mozgovoij SI. *New classification of chronic gastritis*. Omsk: D-Grafiks; 2009. 18 p. EDN: YNHJF
13. Rugge M, Correa P, Di Mario F, et al. OLGA staging for gastritis: a tutorial. *Dig Liver Dis*. 2008;40(8):650–658. doi: 10.1016/j.dld.2008.02.030
14. Li A, Li Y, Li Y, et al. Identification and validation of key genes associated with pathogenesis and prognosis of gastric cancer. *PeerJ*. 2023;11:e16243. doi: 10.7717/peerj.16243
15. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol*. 2014;15(12):550. doi: 10.1186/s13059-014-0550-8
16. Wu T, Hu E, Xu S, et al. clusterProfiler 4.0: a universal enrichment tool for interpreting omics data. *Innovation (Camb)*. 2021;2(3):100141. doi: 10.1016/j.xinn.2021.100141
17. Zaitsev A, Chelushkin M, Dyikanov D, et al. Precise reconstruction of the TME using bulk RNA-seq and a machine learning algorithm trained on artificial transcriptomes. *Cancer Cell*. 2022;40(8):879–894.e16. doi: 10.1016/j.ccell.2022.07.006
18. <https://geneontology.org/> [Internet]. Gene ontology resource. [cited: 2024 Mar 25]. Available from: <https://geneontology.org/>
19. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process — First American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention. *Cancer Res*. 1992;52(24):6735–6740.
20. Pennelli G, Grillo F, Galuppini F, et al. Gastritis: update on etiological features and histological practical approach. *Pathologica*. 2020;112(3):153–165. doi: 10.32074/1591-951X-163
21. Huang RJ, Choi AY, Truong CD, et al. Diagnosis and management of gastric intestinal metaplasia: current status and future directions. *Gut Liver*. 2019;13(6):596–603. doi: 10.5009/gnl19181
22. Piazuelo MB, Bravo LE, Mera RM, et al. The Colombian Chemoprevention Trial: 20-year follow-up of a cohort of patients with gastric precancerous lesions. *Gastroenterology*. 2021;160(4):1106–1117.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2020.11.017
23. Song B, Li T, Zhang Y, et al. Identification and verification of ferroptosis-related genes in gastric intestinal metaplasia. *Front Genet*. 2023;14:1152414. doi: 10.3389/fgene.2023.1152414
24. Petersen CP, Meyer AR, De Salvo C, et al. A signalling cascade of IL-33 to IL-13 regulates metaplasia in the mouse stomach. *Gut*. 2018;67(5):805–817. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312779
25. Ohtani N, Ohtani H, Nakayama T, et al. Infiltration of CD8+ T cells containing RANTES/CCL5+ cytoplasmic granules in actively inflammatory lesions of human chronic gastritis. *Lab Invest*. 2004;84(3):368–375. doi: 10.1038/labinvest.3700039
26. Wang R, Song S, Qin J, et al. Evolution of immune and stromal cell states and ecotypes during gastric adenocarcinoma progression. *Cancer Cell*. 2023;41(8):1407–1426.e9. doi: 10.1016/j.ccell.2023.06.005
27. Battista S, Ambrosio MR, Limarzi F, et al. Molecular alterations in gastric preneoplastic lesions and early gastric cancer. *Int J Mol Sci*. 2021;22(13):6652. doi: 10.3390/ijms22136652
28. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19(3):449–490. doi: 10.1128/CMR.00054-05



29. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [Internet]. NCBI. MYO7B myosin VIIB [Homo sapiens (human)]. [cited: 2024 Mar 25]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4648#gene-expression>
30. <https://www.uniprot.org/> [Internet]. UniProt. [cited: 2024 Mar 25]. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q12864/entry#function>
31. Funakoshi S, Shimizu T, Numata O, et al. BILL-cadherin/cadherin-17 contributes to the survival of memory B cells. *PLoS One*. 2015;10(1):e0117566. doi: 10.1371/journal.pone.0117566
32. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [Internet]. NCBI. CDX1 caudal type homeobox 1 [Homo sapiens (human)]. [cited: 2024 Mar 25]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1044#summary>
33. Kang JM, Lee BH, Kim N, et al. CDX1 and CDX2 expression in intestinal metaplasia, dysplasia and gastric cancer. *J Korean Med Sci*. 2011;26(5):647–653. doi: 10.3346/jkms.2011.26.5.647
34. Kindlund B, Sjöling A, Hansson M, et al. FOXP3-expressing CD4(+) T-cell numbers increase in areas of duodenal gastric metaplasia and are associated to CD4(+) T-cell aggregates in the duodenum of Helicobacter pylori-infected duodenal ulcer patients. *Helicobacter*. 2009;14(3):192–201. doi: 10.1111/j.1523-5378.2009.00673.x
35. Negovan A, Iancu M, Tripon F, et al. Cytokine *TGF-β1*, *TNF-α*, *IFN-γ* and *IL-6* gene polymorphisms and localization of premalignant gastric lesions in immunohistochemically *H. pylori*-negative Patients. *Int J Med Sci*. 2021;18(12):2743–2751. doi: 10.7150/ijms.60517

## ОБ АВТОРАХ AUTHORS' INFO

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author	
<p>* <b>Слепов Юрий Константинович</b>;                  адрес: Россия, 191015, Санкт-Петербург,                  Кирочная улица, 41;  <b>ORCID:</b> 0000-0003-3498-4573;  <b>eLibrary SPIN:</b> 5430-7130;  <b>e-mail:</b> slepovurij95@gmail.com.</p>	<p>* <b>Iurii K. Slepov</b>; address: Russia, 191015,                  Saint-Petersburg, Kirochnaya street, 41,  <b>ORCID:</b> 0000-0003-3498-4573; <b>eLibrary SPIN:</b>                  5430-7130; <b>e-mail:</b> slepovurij95@gmail.com.</p>
Соавторы (должны быть приведены в порядке их перечисления в списке авторов рукописи):	
<p>Емелин Алексей Михайлович; <b>ORCID:</b> 0000-0003-4109-0105; <b>eLibrary SPIN:</b> 5605-1140;  <b>e-mail:</b> eamar40rn@gmail.com</p>	<p>Aleksey M. Emelin;; <b>ORCID:</b> 0000-0003-4109-0105; <b>eLibrary SPIN:</b> 5605-1140;  <b>e-mail:</b> eamar40rn@gmail.com</p>
<p>Деев Роман Вадимович, канд. мед. наук,                  доцент; <b>ORCID:</b> 0000-0001-8389-3841;  <b>eLibrary SPIN:</b> 2957-1687;  <b>e-mail:</b> romdey@gmail.com</p>	<p>Roman V. Deev; MD,Cand.Sci.Med, Assistant                  Professor; <b>ORCID:</b> 0000-0001-8389-3841;  <b>eLibrary SPIN:</b> 2957-1687;  <b>e-mail:</b> romdey@gmail.com</p>

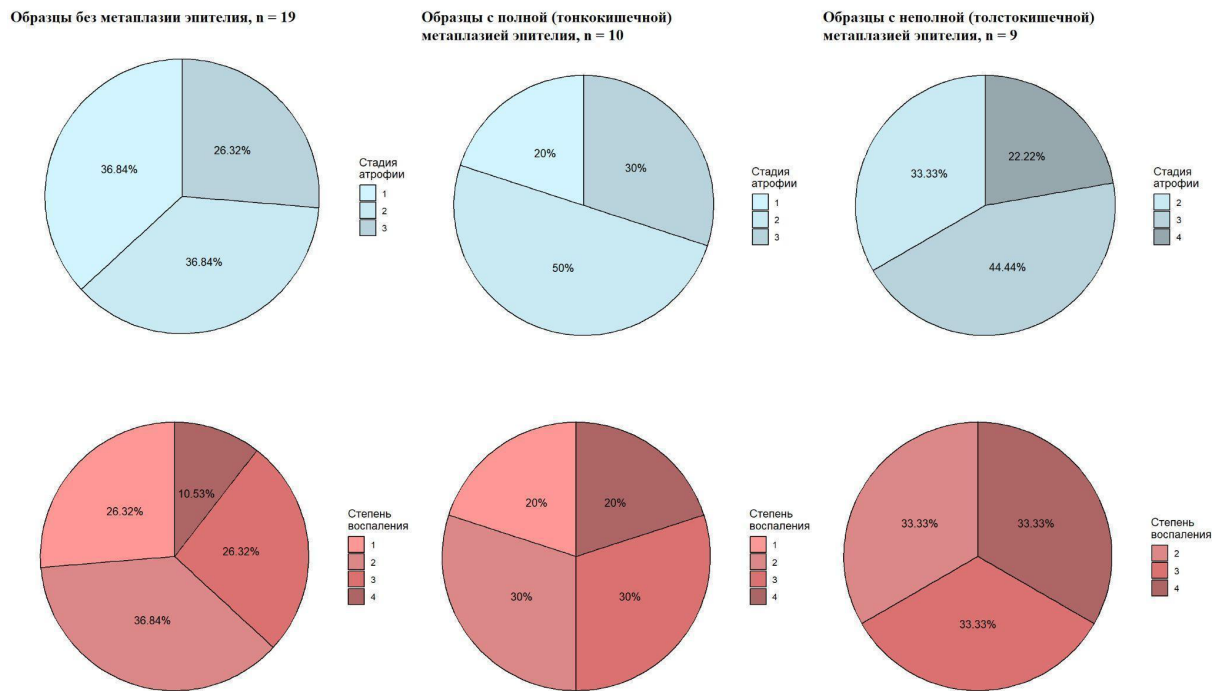
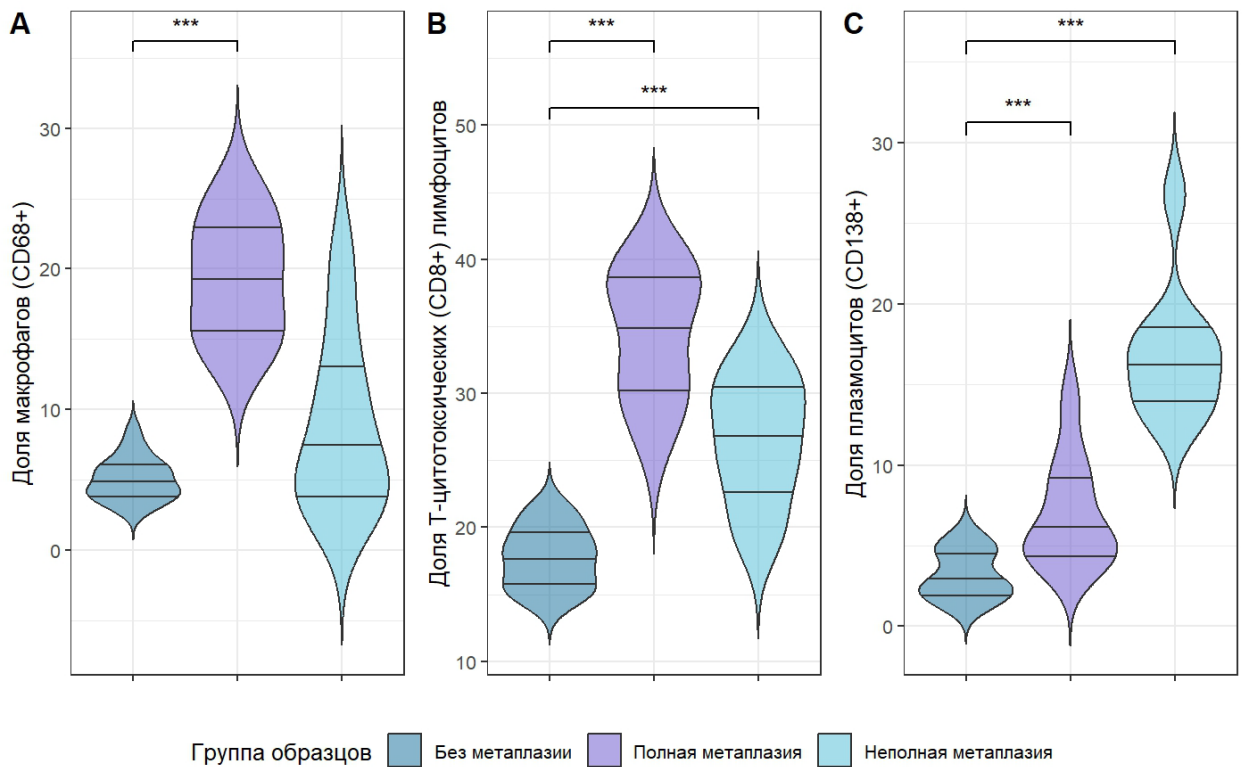


Рис. 1. Соотношение различных стадий атрофии и степени воспаления внутри исследуемых групп, %.  
Fig. 1. The ratio of different atrophy stages and inflammation degrees within the studied groups (%).

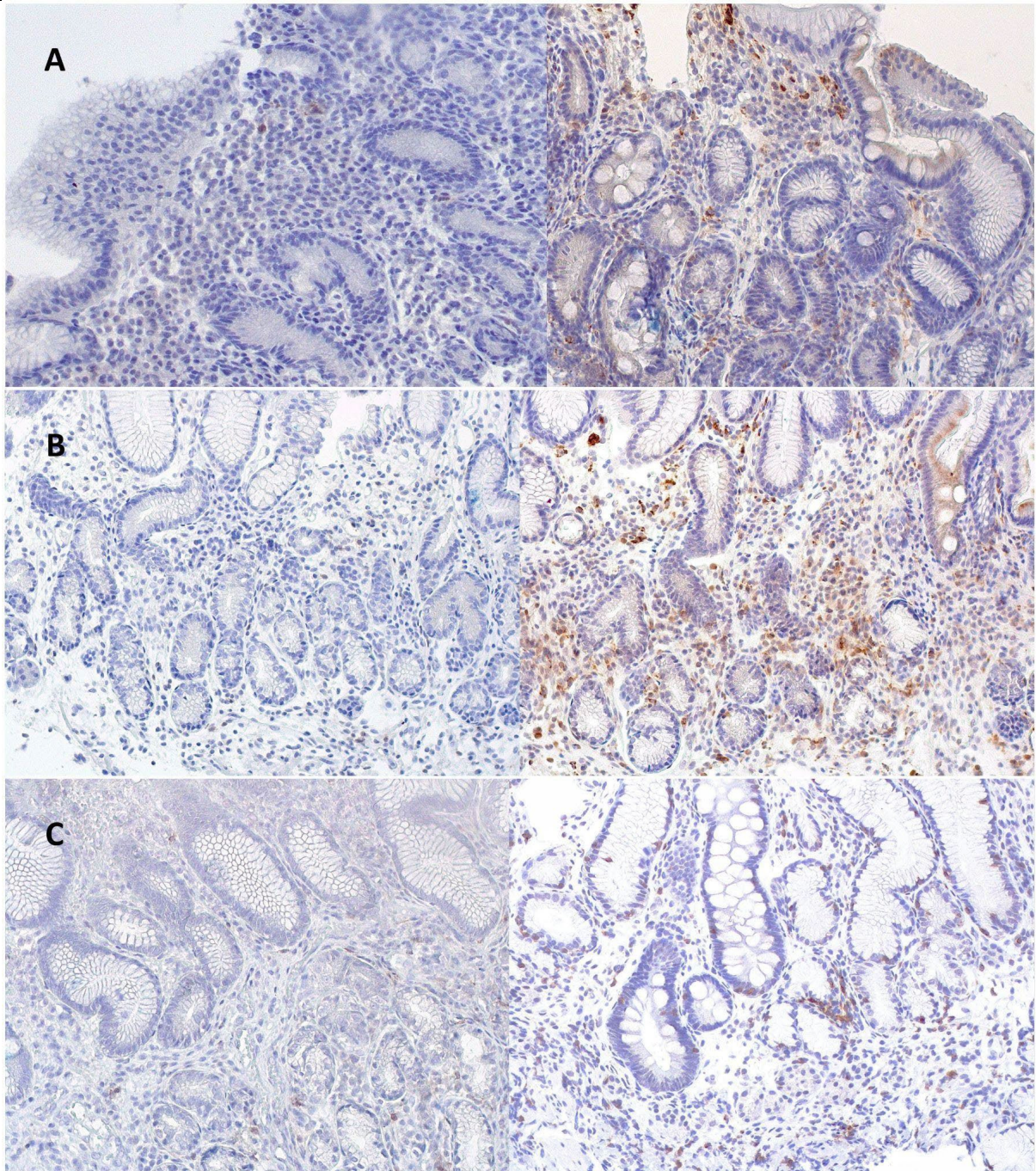


**Рис. 2.** Распределение данных и результаты теста Вилкоксона с поправкой на множественные сравнения Холма: *a* — макрофаги; *b* — Т-цитотоксические лимфоциты; *c* — плазмocyты; \*\*  $p < 0,01$ .

**Fig. 2.** Data distribution and Wilcoxon test results with Holm's correction for multiple comparisons: *a* — macrophages; *b* — T-cytotoxic lymphocytes; *c* — plasmocytes; \*\*  $p < 0.01$ .

Accepted for



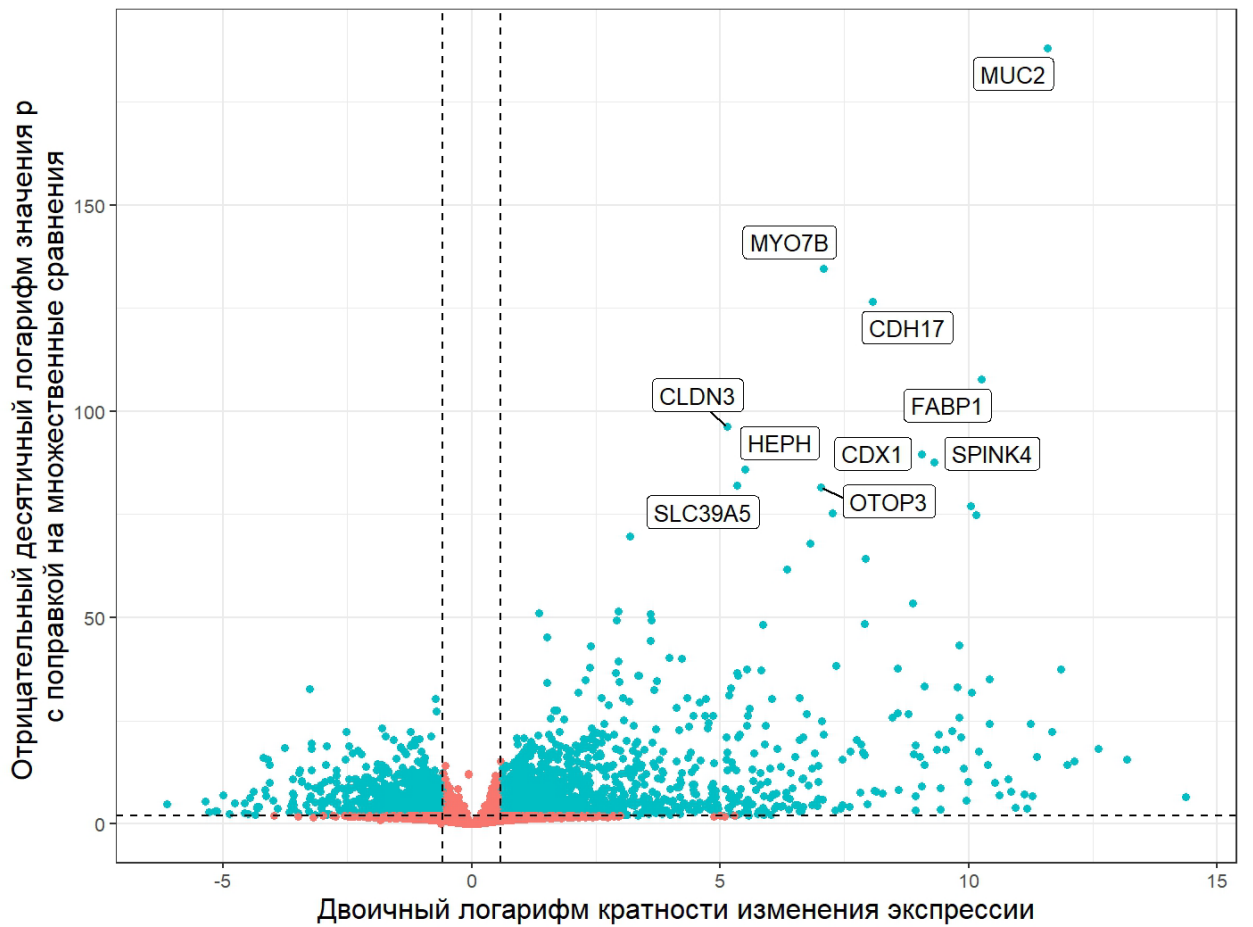


**Рис. 3.** Микрофотографии слизистой оболочки желудка пациентов с хроническим атрофическим гастритом: без метаплазии — слева, с кишечной метаплазией — справа;  $\times 200$ . Иммуногистохимическое исследование с первичными антителами к: а — CD68 (макрофаги); б — CD8 (Т-цитотоксические лимфоциты); с — CD138 (плазмоциты).

**Fig. 3.** Microphotographs of the gastric mucosa of patients with chronic atrophic gastritis without metaplasia — on the left, with intestinal metaplasia — on the right;  $\times 200$ . Immunohistochemical study with primary antibodies to: a — CD68 (macrophages); b — CD8 (T-cytotoxic lymphocytes); c — CD138 (plasmacytes).

ACCEPT





**Рис. 4.** Volcano plot дифференциальной экспрессии генов. Каждая точка на графике обозначает ген. Справа от нуля расположены гены, чья экспрессия выше в группе метаплазии, слева — ниже. Синим отмечены гены с  $p < 0,01$ . Сокращённые названия отмечены для 10 генов с наименьшими значениями  $p$ .

**Fig. 4.** Volcano plot of differential gene expression. Each point on the graph represents a gene. To the right of zero are genes whose expression is higher in the metaplasia group, and to the left — lower. Genes with a  $p < 0.01$  are marked in blue. Abbreviated names are noted for the 10 genes with the lowest  $p$ .

Accepted

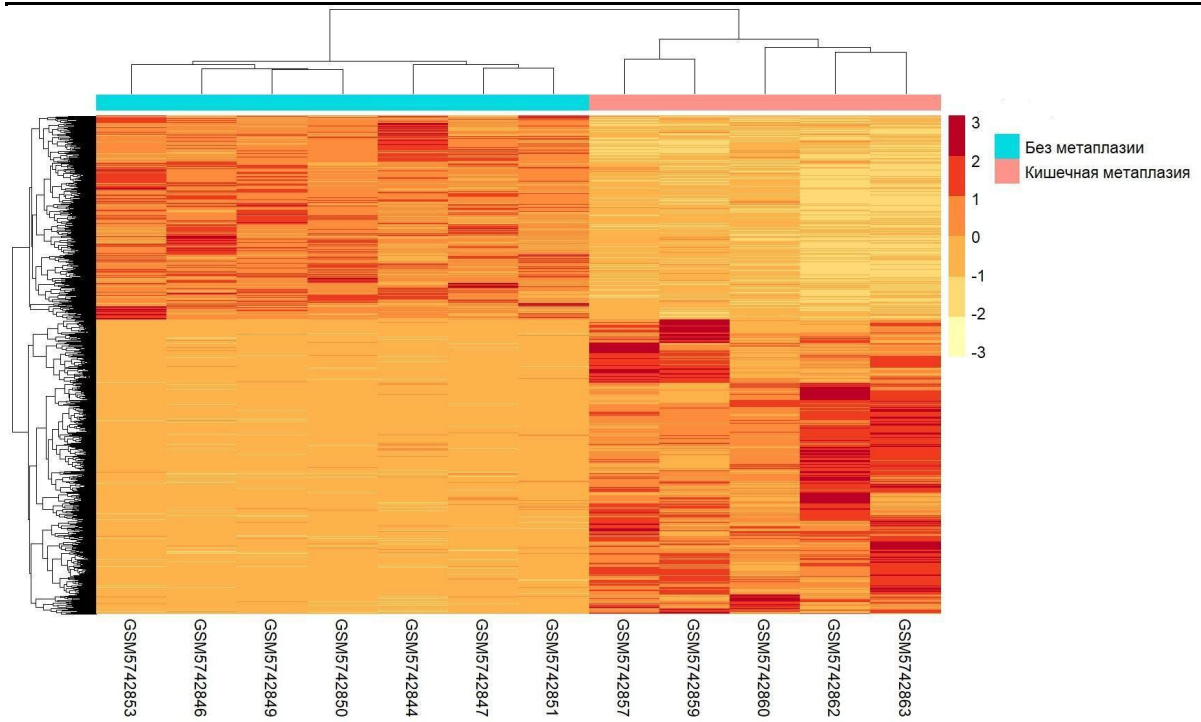


Рис. 5. Результаты кластерного анализа дифференциальной экспрессии генов.

Fig. 5. Results of cluster analysis of differential gene expression.

Accepted for publication

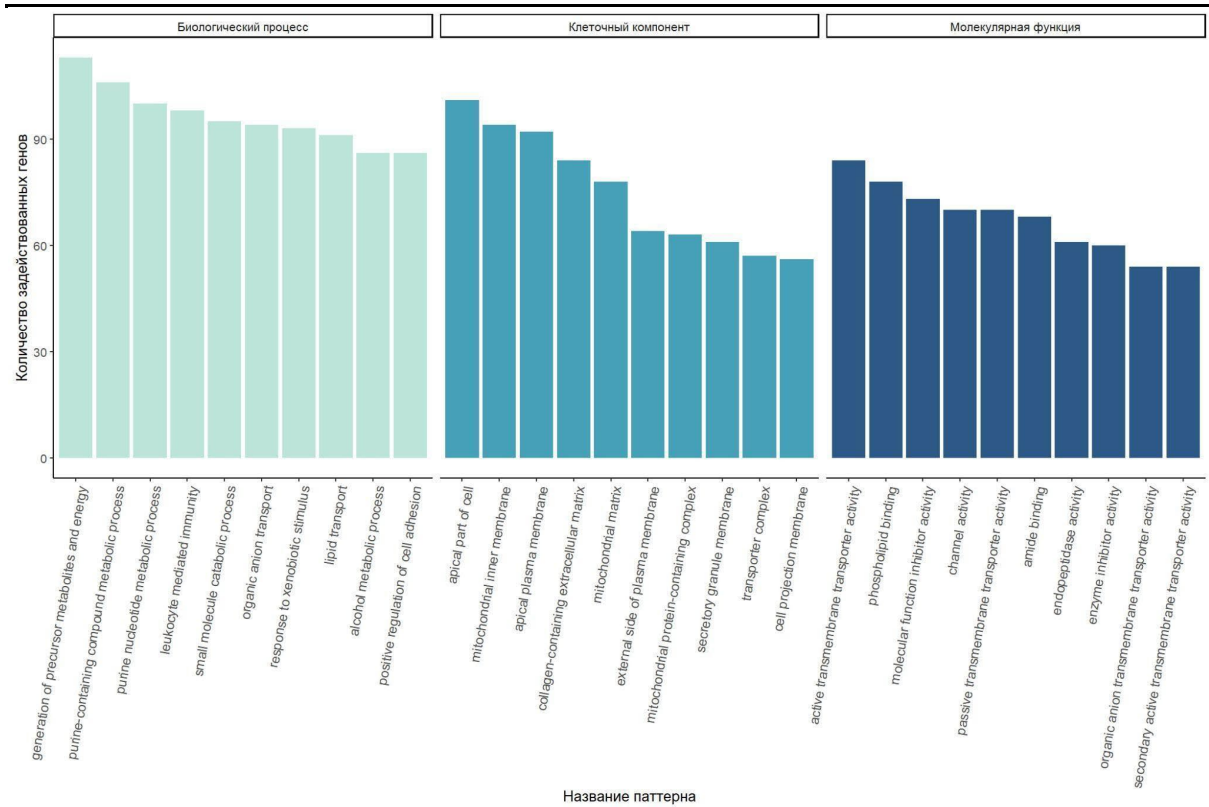
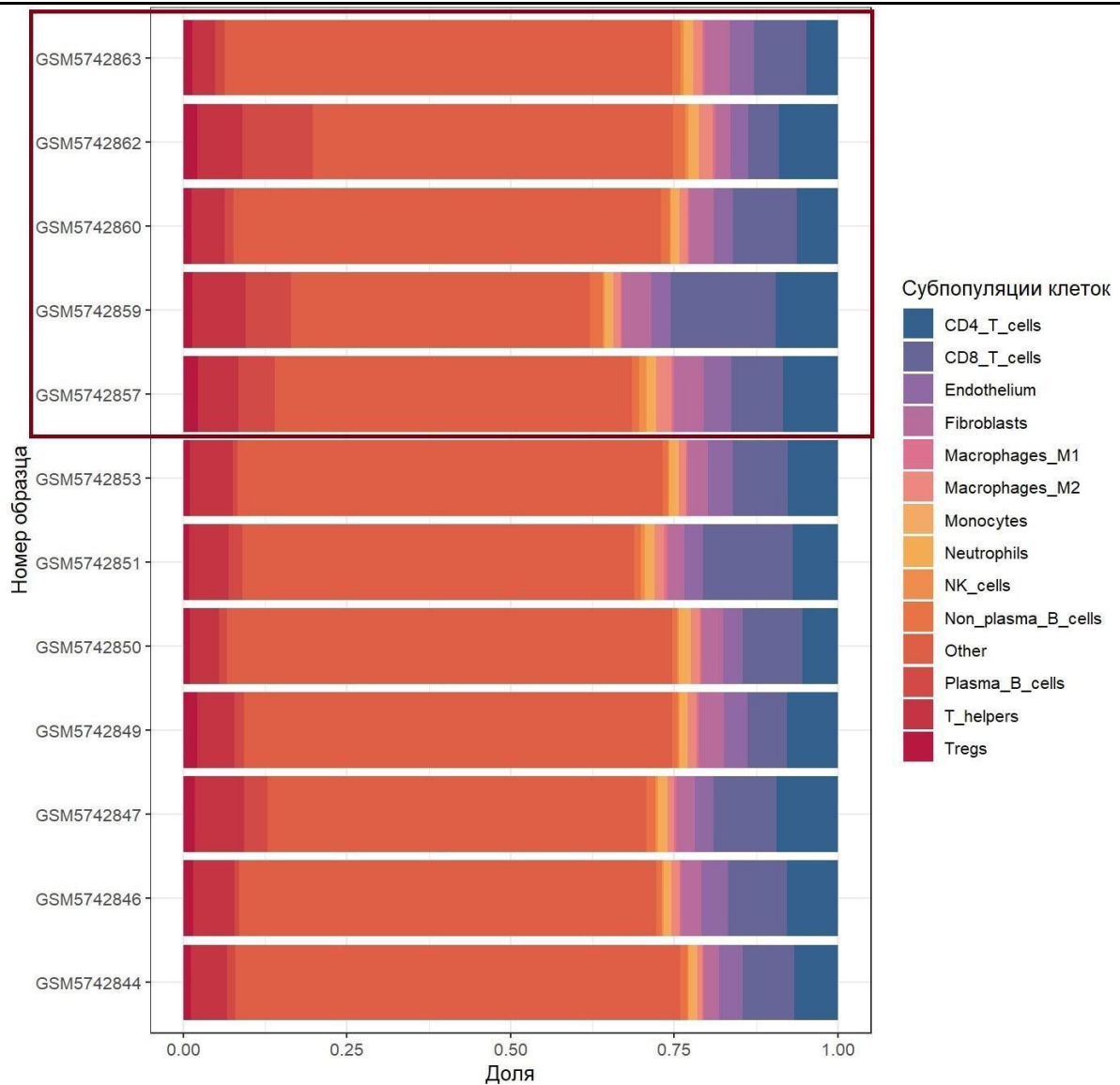


Рис. 6. 10 паттернов, задействующих наибольшее количество генов в каждой из групп Gene Ontology.

Fig. 6. 10 patterns involving the largest number of genes in each Gene Ontology group.

Accepted for



**Рис. 7.** Результаты деконволюции данных РНК-секвенирования. Первые пять образцов относятся к группе кишечной метаплазии (выделены красной рамкой), остальные — к группе без метаплазии.

**Fig. 7.** Deconvolution's results of RNA-seq data. The first five samples belong to the group of intestinal metaplasia (highlighted with a red frame), the rest — to the group without metaplasia.

Ассертед