



Воропаев Е.В.¹✉, Осипкина О.В.¹, Ковалев А.А.¹, Зятыков А.А.¹, Ачинович С.Л.²,
Шафорост А.С.¹, Назарчук Ю.А.³

¹ Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

² Гомельский областной клинический онкологический диспансер, Гомель, Беларусь

³ Гомельская городская клиническая больница № 4, Гомель, Беларусь

Определение онкогенного потенциала *Helicobacter pylori* по результатам комплексной оценки его CagA-статуса и цитокинового профиля сыворотки крови пациентов с заболеваниями желудка

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, написание текста – Воропаев Е.В.; редактирование – Осипкина О.В.; лабораторное сопровождение – Зятыков А.А., Шафорост А.С.; сбор материала – Ачинович С.Л., Назарчук Ю.А.; статистическая обработка – Ковалев А.А.

Подана: 27.01.2022

Принята: 07.03.2022

Контакты: voropaev.evgenii@gmail.com

Резюме

Цель. Разработка алгоритма оценки онкогенного потенциала *Helicobacter pylori*, состоящего в выявлении CagA-статуса микроорганизма методом молекулярно-генетического анализа с установлением в последующем характерных особенностей изменения содержания цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10 сыворотки крови методом ИФА и статистической обработкой результатов осуществленного комплексного лабораторного исследования пациентов с заболеваниями желудка.

Материалы и методы. Методологические принципы анализа основаны на количественной оценке содержания цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10 методом ИФА с предварительным отбором пациентов по CagA-статусу *Helicobacter pylori* с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Результаты. В статье приведены результаты исследований цитокинового профиля (интерлейкин-6 и интерлейкин-10) у пациентов с заболеваниями желудка и двенадцатиперстной кишки (K25–K31); злокачественными новообразованиями желудка (C16–C16.9), инфицированных CagA штаммами *Helicobacter pylori*.

Выводы. Данная технология может быть использована с целью медицинской профилактики развития злокачественных новообразований желудка, связанных с инфекционным процессом, вызванным доминирующими в Республике Беларусь штаммами *Helicobacter pylori*, обладающими онкогенным потенциалом.

Ключевые слова: молекулярно-генетический анализ, ИФА, интерлейкин-6, интерлейкин-10, CagA штамм *Helicobacter pylori*, лабораторная диагностика



Voropaev E.¹✉, Osipkina O.¹, Kovalev A.¹, Zyatkov A.¹, Achinovitch S.², Shaforost A.¹, Nazarchuk Yu.³

¹ Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

² Gomel Regional Clinical Oncological Dispensary, Gomel, Belarus

³ Gomel City Clinical Hospital No. 4, Gomel, Belarus

Determination of Helicobacter Pylori Oncogenic Potential Based on the Results of a Comprehensive Assessment of its CagA Status and Serum Cytokine Profile in Patients with Gastric Diseases

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: conception and design of the study, text writing – Voropaev E.; editing – Osipkina O.; laboratory support – Zyatkov A., Shaforost A.; material collection – Achinovitch S., Nazarchuk Y.; statistical processing – Kovalev A.

Submitted: 27.01.2022

Accepted: 07.03.2022

Contacts: voropaev.evgenii@gmail.com

Abstract

Purpose. Development of an algorithm to assess the oncogenic potential of *Helicobacter pylori*, consisting in detection of CagA status of the microorganism by molecular genetic analysis, followed by determination of characteristic features of IL-6 and IL-10 serum cytokine content by ELISA and statistical processing of the results of comprehensive laboratory examination of patients with gastric diseases.

Materials and methods. Development of an algorithm to assess the oncogenic potential of *Helicobacter pylori*, consisting in detection of CagA status of the microorganism by molecular genetic analysis, followed by determination of characteristic features of IL-6 and IL-10 serum cytokine content by ELISA and statistical processing of the results of comprehensive laboratory examination of patients with gastric diseases.

Results. The article presents the results of cytokine profile studies (interleukin-6 and interleukin-10), in patients with diseases of the stomach and duodenum (K25–K31); gastric malignancies (C16–C16.9), infected with CagA strains of *Helicobacter pylori*.

Conclusions. This technology can be used for medical prevention of the development of malignant neoplasms of the stomach associated with the infection process caused by the dominant strains of *Helicobacter pylori* with oncogenic potential in the Republic of Belarus.

Keywords: molecular genetic analysis, ELISA, interleukin-6, interleukin-10, CagA strain of *Helicobacter pylori*, laboratory diagnosis

■ ВВЕДЕНИЕ

Helicobacter pylori (*H. pylori*) является модельным организмом для понимания взаимодействия пары «хозяин – патоген» и инфекционно-опосредованного канцерогенеза. На основе данных, полученных Международным агентством по изучению рака (International Agency for Research – IARC), следует полагать, что рак желудка является

пятым в числе наиболее распространенных новообразований и выступает в качестве третьей причины смерти от рака в мире (783 000 случаев смерти в 2018 г.) [1]. Заболевания желудка и смертность от рака различаются по регионам и в значительной степени зависят от диеты и инфекции, вызываемой *H. pylori*. Однако рак желудка развивается лишь у очень небольшой части инфицированных *H. pylori* – в среднем от 1 до 3% [2]. Причина такой ситуации до конца не понятна и может быть связана с рядом факторов, включая как особенности патогена, в роли которого выступает бактерия *H. pylori*, так и генетические и фенотипические особенности хозяина, а также влияние окружающей среды [3]. Успехи профилактики и лечения инфекции *H. pylori* снизили общую заболеваемость раком желудка, но способствовали увеличению заболеваемости раком кардии желудка, редким подтипом новообразования, частота встречаемости которого выросла в 7 раз за последние десятилетия [1]. Лучшее понимание этиологии и факторов риска заболевания может помочь прийти к консенсусу в отношении лечения инфекции *H. pylori* [4].

К сожалению, используемые в настоящее время методы лабораторного анализа не позволяют в полной мере проводить своевременную диагностику, оценку прогноза и полную верификацию опухолевого процесса [5]. Тем не менее, методики, базирующиеся на использовании молекулярно-генетических и иммунохимических методов исследования, технологически высокочувствительны и позволяют обнаруживать специфические нарушения задолго до формирования морфологически определяемой опухоли [6].

Рак желудка возникает в результате ряда генетических, эпигенетических и метаболических изменений в продуцирующих слизь клетках на внутренней поверхности слизистой оболочки желудка (СОЖ). Клетки рака желудка экспрессируют множество факторов роста и систем рецепторов цитокинов, которые образуют очень сложную сеть взаимодействия между раковыми клетками и стромальными клетками в микроокружении опухоли и придают опухолям желудка терапевтически устойчивый фенотип. Хотя кратковременная колонизация *H. pylori* протекает бессимптомно, примерно у 10% пациентов, инфицированных *H. pylori*, развиваются пептические язвы, и не более чем у 3% – онкологические заболевания. Стойкая колонизация *H. pylori* значительно увеличивает вероятность развития патологических процессов в желудке. Примечательно, что предраковые поражения, опосредованные инфекцией *H. pylori*, имеют иммунопатологическое происхождение.

Одним из ключевых генов, являющихся значимыми предикторами неблагоприятных клинических исходов, связанных с онкогенным потенциалом *H. pylori*, является цитотоксин-ассоциированный ген A (CagA). Взаимодействие факторов вирулентности, генетических факторов хозяина и факторов окружающей среды способствует развитию заболевания, связанного с *H. pylori*. Хотя гастрит вызывается всеми штаммами *H. pylori*, не все штаммы *H. pylori* способны вызывать карциному желудка. Только штаммы *H. pylori*, содержащие CagA (CagA⁺), увеличивают вероятность развития рака желудка. Ген CagA *H. pylori* вызывает генетическую нестабильность в клетках слизистой оболочки желудка, обычно модулируя активность различных генов.

Иммунный ответ на инфекцию *H. pylori* обычно связан с высвобождением воспалительных и противовоспалительных цитокинов из иммунных клеток различных типов, таких как Th1, Th2, Th17, макрофаги, моноциты, тучные клетки и нейтрофилы. Многие из этих цитокинов, и прежде всего интерлейкины (ИЛ) – ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-17,



ИЛ-23, TNF- α , TGF- β , IFN- γ , CXCL12 и CXCL4, секретируются как в очаге инфекции, так и в общем кровообращении. Специфические мембранные рецепторы экспрессируются эпителиальными клетками желудка, которые помогают передавать сигнал, переносимый различными цитокинами, внутрь клетки. Цитокины действуют на широкий спектр типов клеток, где они связываются со своими родственными мембранными рецепторами и модулируют нижестоящие эффекторы в сигнальном каскаде.

Механизм действия цитокинов в онкогенезе может быть связан с действием определенных киназ, запускающих фосфорилирование активаторов транскрипции, например, STAT3, который после фосфорилирования проникает в ядро и связывается со специфическими регуляторными последовательностями для активации или репрессии транскрипции генов-мишеней. В то же время, помимо действия в качестве фактора транскрипции, STAT3 действует как маркер прогрессирования карциномы желудка.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка способа оценки онкогенного потенциала *H. pylori* для формирования целевой группы с использованием доступных клинической практике лабораторных методов исследования.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании были задействованы пациенты учреждения «Гомельский областной клинический онкологический диспансер», ГУЗ «Гомельская городская клиническая больница № 3», ГУЗ «Гомельская городская клиническая больница № 4». Общая выборка включала в себя 170 пациентов с патологией желудочно-кишечного тракта (ЖКТ): заболеваниями желудка и двенадцатиперстной кишки (K25–K31); злокачественными новообразованиями желудка (C16–C16.9). Обследуемые были разделены на обучающую выборку из 142 пациентов (на которой проводилось обучение, испытание разрабатываемой модели) и тестовую выборку из 28 пациентов, на которой проводилась оценка разработанной модели.

Все участники исследования были информированы о целях исследования и предстоящих процедурах, у всех было получено информированное письменное согласие на участие в исследовании.

В качестве материала для выделения ДНК использовались биоптаты слизистой оболочки желудка (СОЖ), взятые во время проведения фиброгастродуоденоскопии с прицельной биопсией слизистой оболочки антрального отдела и тела желудка, и операционный материал, поступающий в патологоанатомическое отделение учреждения «Гомельский областной клинический онкологический диспансер».

Полученный биологический материал (кусочки ткани объемом не более 5 мм³) вносили в стерильные полипропиленовые пробирки объемом 1,5 мл типа Eppendorf, содержащие 200 мкл стерильного физиологического раствора. Пробирки с пробами плотно закрывали, маркировали и транспортировали в лабораторию.

Выделение ДНК проводили адсорбционным методом в центрифужных колонках, полностью удаляя ингибиторы ПЦР-анализа. Для определения качественных и количественных характеристик препаратов ДНК проводили спектрофотометрический анализ и использовали образцы, для которых соотношение экстинкций составляло: A260/A280 $\geq 1,67$, A260/A230 $\geq 1,90$, A320 $\rightarrow 0$.

Таблица 1
Структура праймеров для проведения ПЦР с целью выявления ДНК *Helicobacter pylori*
Table 1
Structure of primers for PCR to detect *Helicobacter pylori* DNA

Название праймера	Нуклеотидная последовательность 5'-3'
16S-HP-прямой	GGCTATGACGGGTATCCGGC
16S-HP-обратный	GCCGTGCAGCACCTGTTTTTC

Таблица 2
Программа для проведения ПЦР с праймерами для выявления ДНК *Helicobacter pylori*
Table 2
Program for PCR with primers to detect *Helicobacter pylori* DNA

№	Этап	Температура, °C	Продолжительность	Количество циклов
1	Денатурация	95	3 мин.	1
2	Денатурация	95	30 с.	35
	Отжиг	63	60 с.	
	Элонгация	72	60 с.	
3	Элонгация	72	1 мин.	1
4	Охлаждение	4	3 мин.	1

Выявление ДНК *H. pylori* в образцах биоптатов СОЖ (антральный отдел и тело) проводили методом ПЦР, используя праймеры для амплификации фрагмента гена 16S ribosomal RNA *H. pylori*. Структура праймеров и программа для проведения ПЦР-анализа приведены в табл. 1 и 2.

В результате ПЦР в образцах был амплифицирован специфический фрагмент размером 763 п. н. гена 16S ribosomal RNA *H. pylori*.

В качестве положительного контроля (К+) использовали имеющиеся в лаборатории стандарты ДНК *H. pylori*. Соответствие амплифицированных зон фрагменту гена 16S ribosomal RNA *H. pylori* проводили методом секвенирования по Сэнгеру (терминация цепи). Состав реакционной смеси и программа для проведения секвенирующей реакции стандартны. Анализ полученных результатов проводили при помощи программного пакета Sequencing Analysis Software 5.1.1 (Thermo Fisher Scientific, США). Полученные данные о нуклеотидной последовательности в формате FASTA были использованы для поиска с помощью программы BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>).

Выявление фрагмента гена CagA *H. pylori*

Структура праймеров и программа для проведения ПЦР приведены в табл. 3 и 4. В результате ПЦР в образцах амплифицируется специфический фрагмент размером 349 п. н. гена CagA *H. pylori*.

Для проведения ПЦР применяли коммерческие реагенты (Thermo Fisher Scientific, США, Macherey Nagel, Франция) согласно инструкциям производителей.

Соответствие амплифицированных зон фрагменту гена CagA *H. pylori* также проверяли методом секвенирования по Сэнгеру, используя генетический анализатор «НАНОФОР-05» (Россия).

Положительный CagA-статус *H. pylori* методом ПЦР определен в 45 образцах (32%) из обучающей выборки и в 10 образцах (36%) тестовой выборки.



Таблица 3

Структура праймеров для проведения ПЦР с целью выявления фрагмента гена CagA *H. pylori*

Table 3

Structure of primers for PCR to detect the CagA gene fragment of *H. pylori*

Название праймера	Нуклеотидная последовательность 5'-3'
CagA-прямой	GATAACAGGCAAGCTTTTGAGGGA
CagA-обратный	CTGCAAAAGATTGTTTGGCAGA

Таблица 4

Программа проведения ПЦР с праймерами для выявления ДНК гена CagA *Helicobacter pylori*

Table 4

PCR program with primers for detection of *Helicobacter pylori* CagA gene DNA

№	Этап	Температура, °C	Продолжительность	Количество циклов
1	Денатурация	95	3 мин.	1
2	Денатурация	95	20 с.	42
	Отжиг	55	20 с.	
	Элонгация	72	20 с.	
3	Элонгация	72	2 мин.	1
4	Охлаждение	4	3 мин.	1

При проведении ИФА с целью определения цитокинового профиля использовали сыворотку (плазму) крови. Концентрацию цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови пациентов определяли методом ИФА с применением микропланшетного фотометра SunriseTescan (Австрия), используя наборы реагентов «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» и «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ» (производства «ВЕКТОР-БЕСТ», РФ) согласно инструкции производителя.

Работа проводилась на базе научно-исследовательской лаборатории УО «Гомельский государственный медицинский университет».

Статистический анализ полученных данных проведен с использованием языка программирования для статистической обработки данных R.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для проведения исследований из контингента пациентов с заболеваниями желудка были сформированы две группы, в соответствии с диагнозами заболевания, а именно: группа «злокачественные новообразования желудка» (C16–C16.9) и группа «другие заболевания желудка» (включающие в себя болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (K25–K28); гастрит и дуоденит (K29); другие болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (K31)).

Распределения данных в группах значительно отличались от нормального. Для описания данных выбраны непараметрические статистики: медиана, межквартильный диапазон (IQR), 75-й (Q3) и 25-й (Q1) перцентили. Сравнение групп проводилось с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Из начального исходного набора диагностических маркеров (CagA-статус, *H. pylori*, гамма-интерферон, альфа-фактор некроза опухоли, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-1β, моноцитарный хемотаксический белок-1, высокочувствительный С-реактивный белок) были отобраны те, по которым сравниваемые группы имели значимые различия. В итоге были выбраны три предиктора (CagA-статус *H. pylori*, цитокины ИЛ-6 и ИЛ-10).

Результаты предварительной обработки данных представлены в табл. 5.

Таблица 5
Описательная статистика использованных переменных, статистическая значимость различий групп (обучающая выборка)
Table 5
Descriptive statistics of the variables used, statistical significance of group differences (training sample)

Цитокин	CagA-статус	Диагноз	Медиана Q ₂	25% Q ₁	75% Q ₃	IQR	p-value
ИЛ-6	Негатив	Другие заболевания желудка	4,88	2,12	12	9,86	<0,001
		Злокачественное новообразование желудка	45,2	26,2	74,1	48	
	Позитив	Другие заболевания желудка	3,07	1,9	4,88	2,98	<0,001
		Злокачественное новообразование желудка	39,6	20,1	54,9	34,8	
ИЛ-10	Негатив	Другие заболевания желудка	3,21	2,19	5,79	3,61	0,0006
		Злокачественное новообразование желудка	6,6	4,61	9,46	4,85	
	Позитив	Другие заболевания желудка	3,37	2,68	5	2,32	0,0008
		Злокачественное новообразование желудка	14,9	4,06	21	16,9	

Как видно из табл. 5, отмечены статистически значимые различия концентрации цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10 в группах по диагнозу, как в подгруппе с негативным CagA-статусом *H. pylori*, так и в подгруппе с позитивным CagA-статусом *H. pylori*.

Отличия в значениях концентрации цитокинов в плазме крови пациентов с различным диагнозом и CagA-статусом *H. pylori* иллюстрированы с помощью диаграмм размаха (рис. 1, 2) и представлены в табл. 6.

В табл. 6 показана значимая связь между переменными «диагноз» и «CagA-статус *H. pylori*».

Как представлено на рис. 1, 2 и показано в табл. 6, при отрицательном CagA-статусе *H. pylori* вероятность отсутствия злокачественных новообразований желудка значимо выше (p-value = 0,05).

Исходя из приведенных предположений построена модель бинарной логистической регрессии по имеющимся выборочным данным. Для проверки качества модели применен ROC-анализ (табл. 7, рис. 3).

В качестве отклика модели логистической регрессии может выступать вероятность наступления события (злокачественного новообразования желудка), результаты расчета которой могут быть применены для разделения пациентов на соответствующие категории. Диагностическая модель логистической регрессии имеет вид, представленный в формуле:

$$Pr = e^{-3,25 + 1,14 \times CagA + 0,073 \times ИЛ-6 + 0,06 \times ИЛ-10} / (1 + e^{-3,25 + 1,14 \times CagA + 0,073 \times ИЛ-6 + 0,06 \times ИЛ-10}),$$

где Pr – вероятность наличия у пациента злокачественных новообразований желудка;

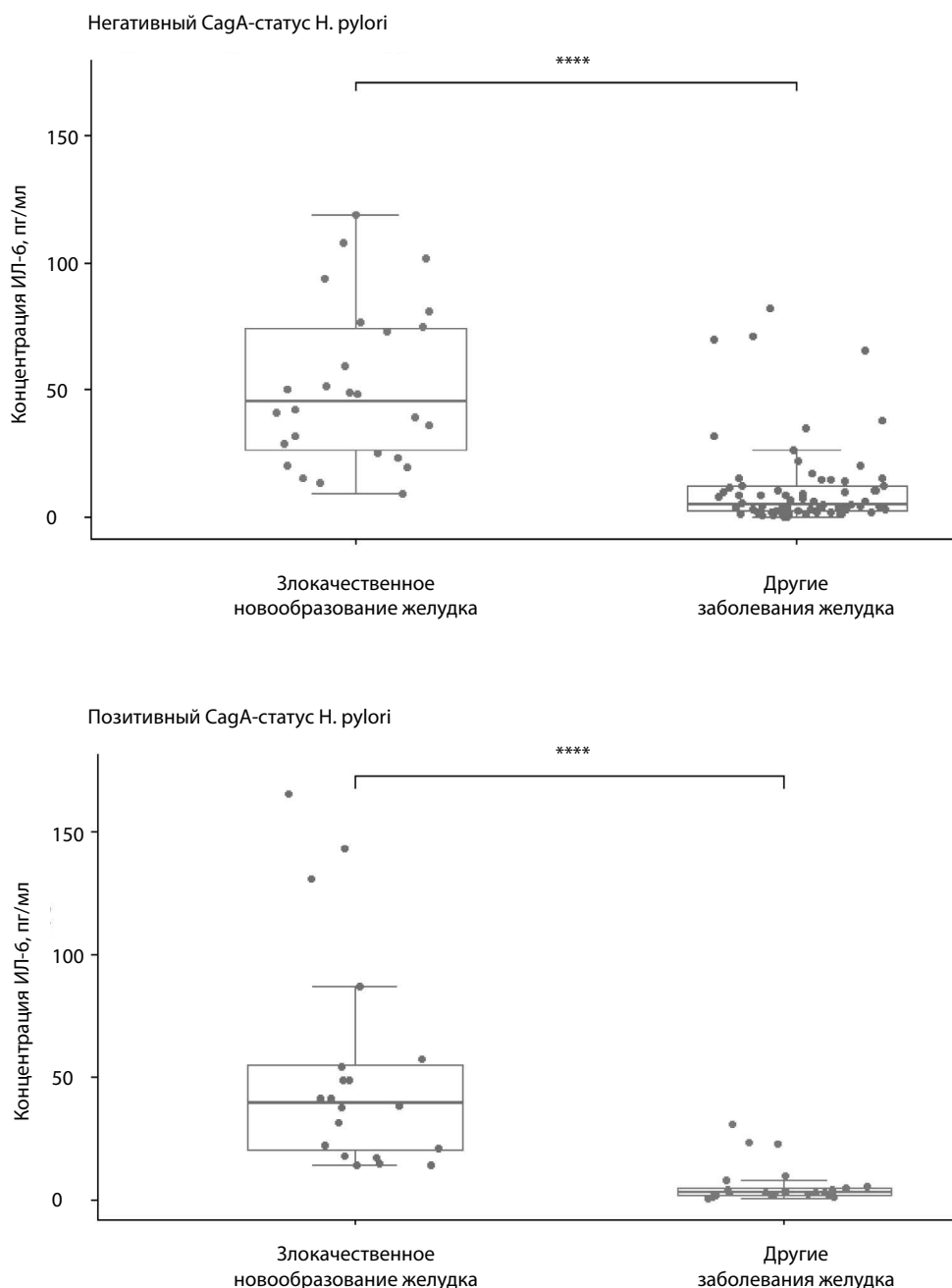


Рис. 1. Диаграмма размаха значений концентрации интерлейкина-6 в плазме крови пациентов с различным диагнозом и CagA-статусом *H. pylori*

Fig. 1. Scatter plot of plasma interleukin-6 concentrations in patients with different diagnosis and CagA status of *H. pylori*

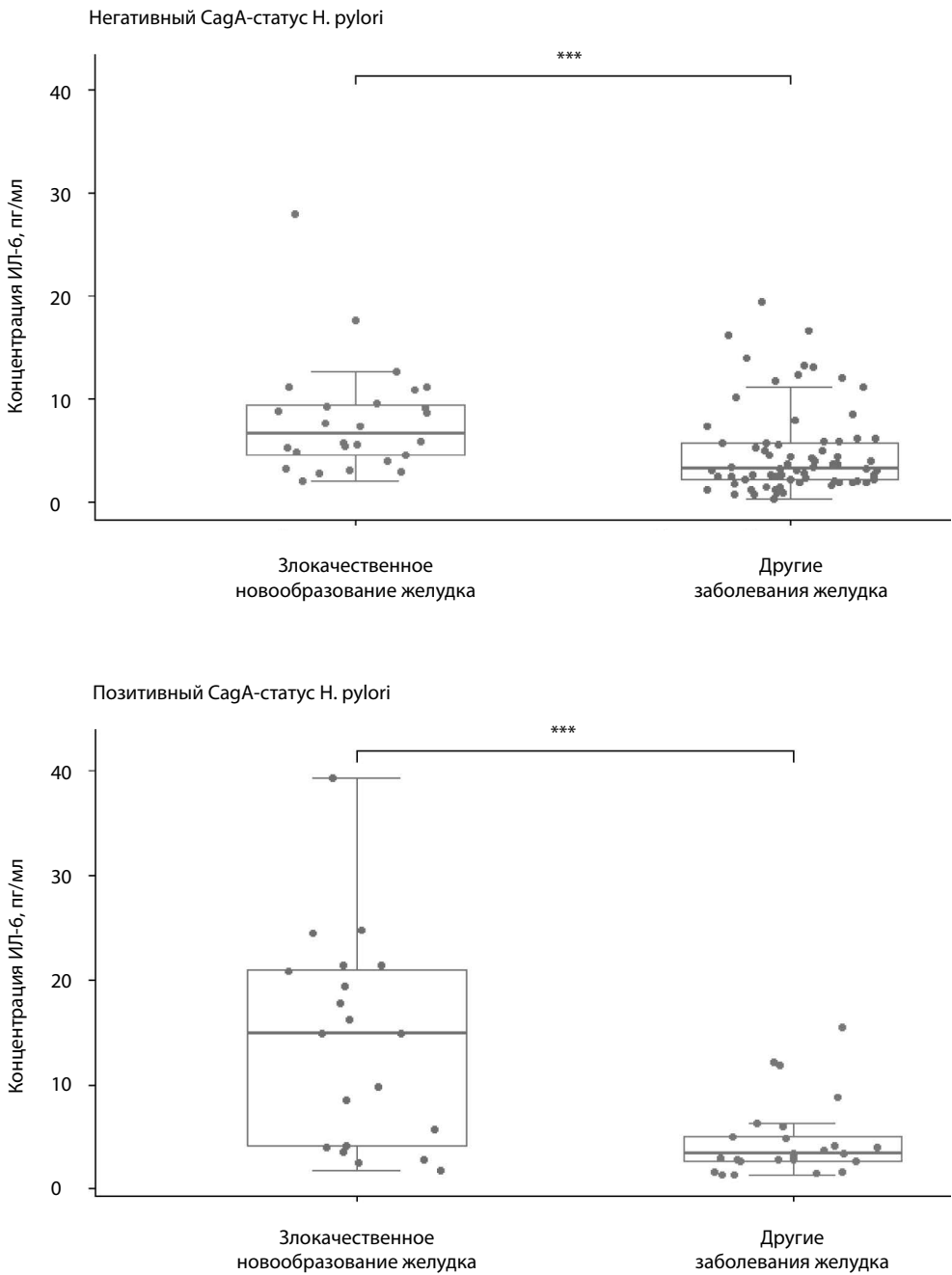


Рис. 2. Диаграмма размаха значений концентрации интерлейкина-10 в плазме крови пациентов с различным диагнозом и CagA-статусом *H. pylori*
Fig. 2. Scatter diagram of plasma interleukin-10 concentrations in patients with different diagnosis and CagA-status of *H. pylori*



Таблица 6

Таблица сопряженности по переменным «диагноз» и «CagA-статус H. pylori»

Table 6

Table of concordance on "diagnosis" and "CagA status of H. pylori" variables

Диагноз	CagA-статус H. pylori		Тест χ^2 с поправкой Йетса
	негатив	позитив	
Другие заболевания желудка	71 (73,95%) n=96	25 (26,05%) n=96	$\chi^2=3,5994$, p-value = 0,05
Злокачественные новообразования желудка	26 (56,5%) n=46	20 (43,5%) n=46	
Итого	97	45	142

Таблица 7

Коэффициенты для каждой переменной регрессии (Estimate) и их статистическая значимость

Table 7

Coefficients for each regression variable (Estimate) and their statistical significance

Переменные	Значение коэффициентов модели регрессии (95% ДИ)	Отношение шансов OR (95% ДИ)	z-критерий	p-value
Свободный член (Intercept)	-3,250 (-4,388; -2,314)	0,039 (0,012; 0,099)	-6,203	<0,001
CagA-статус H. pylori «позитив»	1,140 (0,113; 2,215)	3,140 (1,119; 9,159)	2,150	0,0312
ИЛ-6	0,073 (0,0479; 0,1052)	1,076 (1,049; 1,111)	5,067	<0,001
ИЛ-10	0,060 (-0,031; 0,160)	1,061 (0,999; 1,174)	1,223	0,22

CagA – наличие или отсутствие фрагмента гена CagA H. pylori, обозначаемое «1» или «0» соответственно;

ИЛ-6 – значение концентрации интерлейкина-6, выраженное в нг/л;

ИЛ-10 – значение концентрации интерлейкина-10, выраженное в нг/л.

Формула размещена по адресу: <https://gsmu.by/upload/calcCancer/calc.html>.

Для оценки качества работы модели на обучающих данных по формуле было рассчитано значение Pr для каждого пациента. Посредством ROC-анализа (ROC-кривая полученной модели представлена на рис. 3) произведена оценка оптимального порога отсечения отклика модели логистической регрессии. Согласно методу Йодена порог принят равным 0,263 (95% ДИ: 0,172; 0,305). Полученное значение Pr для каждого пациента сравнивали с пороговым значением, тем самым определяя пациента в группу согласно алгоритму, описанному в табл. 8. Далее оценивались диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность модели.

Как видно из рис. 3, модель имеет высокую прогностическую способность. Диагностическая специфичность составляет 88,5% (95% ДИ: 80%; 95%), диагностическая чувствительность – 89,1% (95% ДИ: 80%; 97%).

Затем было проведено тестирование разработанной модели на тестовой выборке из 28 пациентов со злокачественными заболеваниями желудка (7 пациентов) и другими заболеваниями желудка (21 пациент).

Результаты тестирования модели приведены в табл. 9.

Как видно из табл. 9, при проверке модели показано, что работоспособность ее подтверждается на тестовой выборке с достаточно высоким результатом. Процент правильно предсказанных результатов для пациентов со злокачественными

Таблица 8
Интерпретация полученных результатов
Table 8
Interpretation of results obtained

Сравнение расчетного и порогового значения р	Интерпретация
Расчетное значение Pr >0,263	Онконастороженность. Пациент нуждается в обязательном углубленном обследовании и дополнительном диспансерном наблюдении (Z03.1 «Наблюдение при подозрении на злокачественную опухоль»)
Расчетное значение Pr <0,263	Другие заболевания ЖКТ (K25–K28, K29, K31), не являющиеся злокачественными новообразованиями желудка

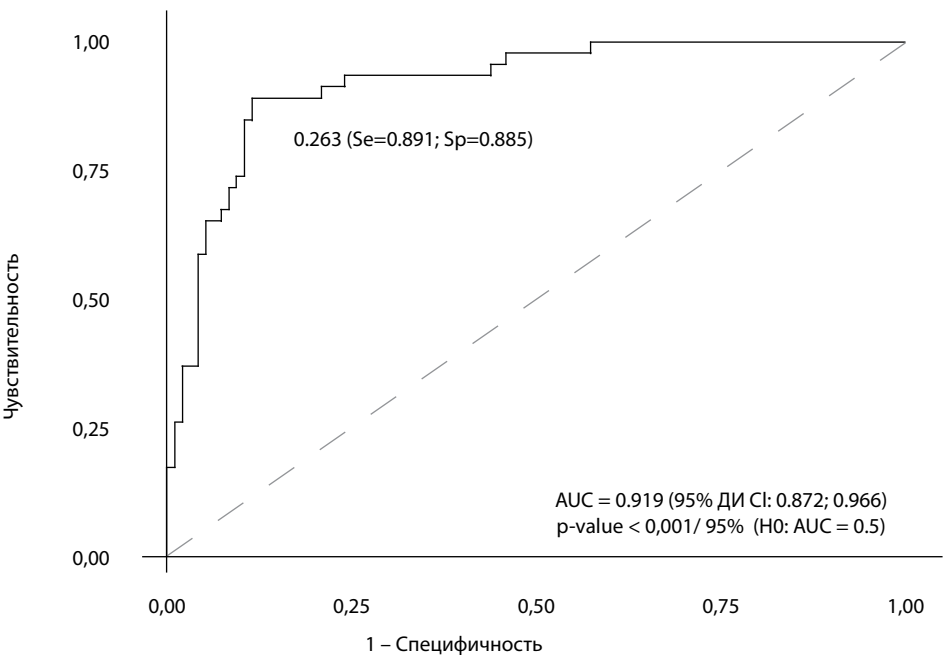


Рис. 3. ROC-кривая оценки модели логистической регрессии
Fig. 3. ROC-curve estimation of a logistic regression model

Таблица 9
Результаты тестирования предложенной модели
Table 9
Test results of the proposed model

Отклик тестируемой модели	Другие заболевания желудка (модель)	Злокачественные новообразования желудка (модель)
Наблюдаемые значения		
Другие заболевания желудка	14 (66,7%) n=21	7 (33,3%) n=21
Злокачественные новообразования желудка	0 n=7	7 (100%) n=7



заболеваниями желудка составляет 100%, а для пациентов с другими заболеваниями желудка 66,7%.

■ ВЫВОДЫ

1. Разработан и апробирован метод оценки онкогенного потенциала *H. pylori* с определением его *SagA*-статуса и концентрации цитокинов интерлейкина-6 и интерлейкина-10 в сыворотке крови пациентов с заболеваниями желудка, обладающий достаточно высокими показателями диагностической специфичности (88,5%) и диагностической чувствительности (89,1%), что позволяет использовать его в комплексе медицинских услуг, направленных на формирование групп риска пациентов, с целью медицинской профилактики развития злокачественных новообразований желудка, связанных с инфекционным процессом, вызванным доминирующими в Республике Беларусь штаммами *H. pylori*.
2. Расчетное значение показателя интегральной оценки результатов комплексного лабораторного исследования $Pr > 0,263$ (95% ДИ: 0,172; 0,305) указывает на высокую степень вероятности формирования злокачественного новообразования желудка при инфекционном процессе, вызванном *SagA* штаммами *H. pylori*.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

3. Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. *Prz Gastroenterol*. 2019;14(1):26–38. DOI: <https://doi.org/10.5114/pg.2018.80001>
4. Díaz P, Valenzuela Valderrama M., Bravo J. Helicobacter pylori and Gastric Cancer: Adaptive Cellular Mechanisms Involved in Disease Progression. *Front Microbiol*. 2018;9:5. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018>
5. Alexander S.M., Retnakumar R.J., Chouhan D. Helicobacter pylori in Human Stomach: The Inconsistencies in Clinical Outcomes and the Probable Causes. *Front Microbiol*. 2021;12:713955. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.713955>
6. Debraekeleer A., Remaut H. Future perspective for potential Helicobacter pylori eradication therapies. *Future Microbiol*. 2018;13:671–687. DOI: <https://doi.org/10.22217/fmb-2017-0115>
7. Venerito M., Vasapolli R., Rokkas T. Gastric cancer: epidemiology, prevention, and therapy. *Helicobacter*. 2018;23:e12518. DOI: <https://doi.org/10.1111/hel.12518>
8. Sokolenko A.P., Imyaninov E.N. Molecular Diagnostics in Clinical Oncology. *Front Mol Biosci*. 2018;5:76. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2018.00076>
9. Jan I., Rather R.A., Mushtaq I. Helicobacter pylori Subduces Cytokine Signaling to Alter Mucosal Inflammation via Hypermethylation of Suppressor of Cytokine Signaling 1 Gene During Gastric Carcinogenesis. *Front Oncol*. 2021;10:604747. Published 2021 Jan 25. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.604747>
10. Peek R.M. Jr, Blaser M.J. Helicobacter pylori and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(1):28–37. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc703>
11. Peek R.M. Jr, Crabtree J.E. Helicobacter infection and gastric neoplasia. *J Pathol*. 2006;208(2):233–248. DOI: <https://doi.org/10.1002/path.1868>
12. Arnold I.C., Lee J.Y., Amieva M.R. Tolerance rather than immunity protects from Helicobacter pylori-induced gastric preneoplasia. *Gastroenterology*. 2011;140(1):199–209. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.06.047>
13. Šebunova N., Štěpetova J., Sillakivi T. The Prevalence of Helicobacter pylori in Estonian Bariatric Surgery Patients. *Int J Mol Sci*. 2018;19(2):338. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19020338>
14. Beevers D.G., Lip G.Y., Blann A.D. Salt intake and Helicobacter pylori infection. *J Hypertens*. 2004;22(8):1475–7. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000133736.77866.77>
15. Zhang W., Lu H., Graham D.Y. An Update on Helicobacter pylori as the Cause of Gastric Cancer. *Gastrointest Tumors*. 2014;1(3):155–165. DOI: <https://doi.org/10.1159/000365310>
16. Niu Q., Zhu J., Yu X. Immune Response in H. pylori-Associated Gastritis and Gastric Cancer. *Gastroenterol Res Pract*. 2020;2020:9342563. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/9342563>
17. Zhuang Y., Peng L.S., Zhao Y.L. CD8(+) T cells that produce interleukin-17 regulate myeloid-derived suppressor cells and are associated with survival time of patients with gastric cancer. *Gastroenterology*. 2012;143(4):951–62.e8. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.06.010>
18. Bockerstett K.A., DiPaolo R.J. Regulation of Gastric Carcinogenesis by Inflammatory Cytokines. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2017;4(1):47–53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2017.03.005>
19. Pandey A., Tripathi S.C., Shukla S. Differentially localized survivin and STAT3 as markers of gastric cancer progression: Association with Helicobacter pylori. *Cancer Rep (Hoboken)*. 2018;1(1):e1004. DOI: <https://doi.org/10.1002/cnr2.1004>
20. Stiglic G., Watson R., Cilar L. R you ready? Using the R programme for statistical analysis and graphics. *Res Nurs Health*. 2019;42(6):494–499. DOI: <https://doi.org/10.1002/nur.21990>
21. Isidro-Sánchez J., Akdemir D., Montilla-Bascón G. Genome-Wide Association Analysis Using R. *Methods Mol Biol*. 2017;1536:189–207. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6682-0_14