

## Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с аутоиммунным гастритом

М.В. Кручинина<sup>1,2</sup>, А.В. Белковец<sup>1,2</sup>, Н.В. Ожиганова<sup>1</sup>, Л.В. Щербакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН  
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

<sup>2</sup> Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

### Резюме

У пациентов с аутоиммунным гастритом (АИГ) часто встречаются анемии различного генеза. Гематологические нарушения обычно предвещают тяжелую атрофию и во многих случаях являются единственными индикаторами заболевания. Цель исследования – изучить электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов у больных АИГ для их возможного использования в диагностике. **Материал и методы.** Обследованы 73 пациента с АИГ (средний возраст  $55,3 \pm 12,54$  года) и 38 человек группы контроля. Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов исследовали методом диэлектрофореза. **Результаты и их обсуждение.** Установлено статистически значимое снижение среднего диаметра клеток, доли дискоцитарных и повышение доли сфероцитарных, деформированных форм в группе пациентов с АИГ в сочетании с инфекцией *Helicobacter pylori* (*H. pylori*, Н.р.) по сравнению со здоровыми лицами. Пациенты с АИГ имели достоверно меньшую амплитуду деформации, емкость мембран, дипольный момент, скорость движения клеток к электродам, поляризуемость на высоких частотах электрического поля ( $10^6$ ,  $0,5 \times 10^6$  Гц), относительную поляризуемость и, напротив, более высокие значения электропроводности мембран, индексов агрегации, деструкции, обобщенных показателей вязкости, жесткости, чем в группе сравнения. Между группами пациентов с инфекцией *H. pylori* и без нее выявлены различия в показателях, отражающих поверхностный заряд эритроцитов – скорость движения к электродам ( $p = 0,019$ ), дипольный момент ( $p < 0,001$ ) и состояние мембран (емкость) ( $p = 0,004$ ). Диагностическая модель, включающая три параметра эритроцитов (дипольный момент, скорость движения к электродам, емкость клеточной мембраны), обеспечила высокую диагностическую точность различения АИГ Н.р. (+) и Н.р. (–) – площадь под ROC-кривой АUC 0,925, чувствительность 92,4 %, специфичность 89,7 %. **Заключение.** Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов перспективны в диагностике АИГ, в том числе на фоне инфекции *H. pylori*.

**Ключевые слова:** аутоиммунный гастрит, электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, анемия, *Helicobacter pylori*.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Автор для переписки:** Ожиганова Н.В., e-mail: natalya.safyanova@mail.ru

**Для цитирования:** Кручинина М.В., Белковец А.В., Ожиганова Н.В., Щербакова Л.В. Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с аутоиммунным гастритом. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(6):60–69. doi: 10.18699/SSMJ20220607

## Investigation of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes in patients with autoimmune gastritis

M.V. Kruchinina<sup>1,2</sup>, A.V. Belkovets<sup>1,2</sup>, N.V. Ozhiganova<sup>1</sup>, L.V. Shcherbakova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Internal and Preventive Medicine –  
Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS  
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1

<sup>2</sup> Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52

## Abstract

Patients with autoimmune gastritis (AIG) often have anemia of various origins. Hematological disorders usually portend severe atrophy, and in many cases, are the only indicators of the disease. Aim of the study was to investigate the electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes in patients with AIG for their possible use in diagnostics. **Material and methods.** 73 patients with AIG (mean age  $55.3 \pm 12.54$  years) and 38 people of the control group were examined. Electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes were studied by dielectrophoresis. **Results.** Statistically significant decrease in the average cell diameter, the proportion of discocytes cells and an increase in the proportion of spherocytes, deformed forms were found in the group of patients with AIG in combination with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*, H.p.) infection compared with healthy individuals. Patients with AIG had significantly lower levels of amplitude of deformation, membrane capacity, dipole moment, speed of cell movement to the electrodes, polarizability at high frequencies of the electric field ( $10^6$ ,  $0.5 \times 10^6$  Hz), relative polarizability, and, conversely, higher values of membrane conductivity, aggregation, destruction indexes, summarized viscosity, rigidity, than those in the comparison group. Between groups of patients with and without *H. pylori* infection, differences were found in indicators reflecting the surface charge of erythrocytes – the speed of movement to the electrodes ( $p = 0.019$ ), the dipole moment ( $p < 0.001$ ) and the state of the membranes – its capacity ( $p = 0.004$ ). The diagnostic model, which includes three parameters of erythrocytes – the dipole moment, the speed of movement to the electrodes, the capacity of the cell membrane, provided high diagnostic accuracy of distinguishing AIG H.p. (+) and H.p. (–) – area under ROC curve AUC 0.925, sensitivity 92.4 %, specificity 89.7 %. **Conclusions:** Electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes are promising in the diagnosis of AIG, including on the background of *H. pylori* infection.

**Key words:** autoimmune gastritis, electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes, anemia, *Helicobacter pylori*.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interest.

**Correspondence author:** Ozhiganova N.V., e-mail: natalya.safyanova@mail.ru

**Citation:** Kruchinina M.V., Belkovets A.V., Ozhiganova N.V., Shcherbakova L.V. Investigation of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes in patients with autoimmune gastritis. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(6):60–69. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220607

## Введение

Аутоиммунный гастрит (АИГ) – состояние, при котором происходит поражение секреторного аппарата желудка иммунными комплексами, что приводит к атрофии желез желудка, снижению выработки соляной кислоты. У пациентов с АИГ часто встречаются гематологические нарушения. Характерным для этого заболевания является развитие дефицита железа (ЖД) и витамина  $B_{12}$  [1]. ЖД при атрофическом гастрите обусловлен снижением соляной кислоты, которая способствует переходу трехвалентного железа ( $Fe^{3+}$ ) в его биодоступную двухвалентную форму ( $Fe^{2+}$ ) [1]. Причем ЖД появляется значительно раньше дефицита кобаламина, это связано с наличием запасов витамина в печени [2].

Помимо описанных выше причин развития ЖД при АИГ, стоит также рассмотреть воздействие инфекции *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Самым очевидным механизмом возникновения

ЖД при гастрите, ассоциированном с *H. pylori*, является снижение содержания аскорбиновой кислоты, способствующей усвоению железа [3]. Иные механизмы поглощения железа *H. pylori* служат факторами его вирулентности. Несколько исследований показали, что изоляты *H. pylori*, полученные от пациентов с железodefицитной анемией (ЖДА), отличаются от изолятов пациентов без анемии и обладают большей способностью к поглощению и пролиферации железа [4]. В литературе обсуждается роль инфекции *H. pylori* в развитии дефицита витамина  $B_{12}$ , объясняется это тем, что бактерия индуцирует выработку антител, которые перекрестно реагируют с  $H^+/K^+$ -АТФ-азой [2].

Таким образом, в литературе имеются немногочисленные исследования, посвященные изучению состояния красной крови у пациентов с АИГ, в том числе на фоне инфекции *H. pylori*. Во всех работах отмечены изменения эритроцитов, выявляемые рутинными методами, у пациентов с

длительным течением заболевания, когда уже диагностируется анемия разной степени тяжести. Вместе с тем проведенные нами ранее исследования структурно-функциональных параметров эритроцитов методом диэлектрофореза показали возможность более раннего выявления нарушений электрических, вязкоупругих свойств эритроцитов до развития анемического синдрома [5]. При этом сведений об изменении вышеуказанных показателей красной крови в литературе не обнаружено, что определило актуальность настоящего исследования.

Цель работы – изучить особенности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с АИГ для их возможного использования в диагностике.

## Материал и методы

Обследованы 73 человека (средний возраст  $55,3 \pm 12,54$  года) с АИГ (66 женщин, 7 мужчин) и 38 человек группы сравнения (средний возраст  $54,7 \pm 10,99$  года). Поскольку четких критериев АИГ на сегодняшний день нет, диагноз был верифицирован на основании сочетания гистологических и серологических данных [6]. Группу сравнения составили практически здоровые обследуемые, употребляющие алкоголь не чаще 1–2 раза в месяц не более 2–3 доз в пересчете на чистый этанол.

Исследование выполнено с одобрения Комитета биомедицинской этики НИИ терапии и профилактической медицины (протокол № 11 от 02.03.2021). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Больным АИГ выполнен общий анализ крови, исследованы показатели обмена железа: содержание сывороточного железа и ферритина. Анемию определяли при концентрации гемоглобина  $< 130$  г/л у мужчин и  $< 120$  г/л у женщин [7]. ЖД регистрировали при содержании железа сыворотки крови  $< 9$  ммоль/л, ферритина  $< 30$  нг/мл [7]. Для определения сочетанного генеза анемии измеряли уровень витамина  $B_{12}$ , С-реактивного белка (СРБ; иммунотурбидиметрия), общего билирубина (ИФА). При содержании витамина  $B_{12}$   $< 187$  пг/мл его считали сниженным. Анемия хронического заболевания диагностировалась при одновременном повышении СОЭ, уровня СРБ и ферритина  $> 100$  нг/мл. Методом непрямой иммунофлуоресценции определяли титр антител к париетальным клеткам (АПК) и внутреннему фактору Касла, для оценки функции щитовидной железы анализировали содержание антител к тиреопероксидазе (АТПО) и тиреотропного гормо-

на (ТТГ). Во всех группах был проведен анализ биомаркеров атрофии с помощью тест-системы GastroPanel (Biohit Oyj, Финляндия).

Пациенты основной группы прошли эндоскопическое исследование с последующей морфологической оценкой биоптатов и определением стадии хронического гастрита по системе OLGA. Статус инфекции *H. pylori* определялся двумя диагностическими тестами (обнаружением *H. pylori* в биопсийном материале, одностадийным иммунохроматографическим методом выявления специфических антигенов *H. pylori* в кале,  $^{13}C$ -уреазным дыхательным тестом) [8].

У всех обследованных изучены электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле с помощью электрооптической системы детекции клеток [5]. Для распознавания образа клеток и компьютерной обработки данных использовали пакет оригинальных программ CELLFIND. Ошибка воспроизводимости метода составила 7–12 %.

При статистической обработке данных определялся характер распределения количественных признаков методом Колмогорова – Смирнова. При сравнении двух нормально распределенных выборок использовался t-тест Стьюдента. В случае отсутствия нормального распределения вычислялись медиана, 25 и 75 % процентиля (Me [25 %; 75 %]), достоверность различий показателей оценивали с помощью непараметрических критериев (Манна – Уитни, Краскела – Уоллиса). Для определения статистической значимости различий относительных показателей применяли критерий  $\chi^2$  Пирсона. Критический уровень значимости определялся при  $p < 0,05$ . Связи между признаками оценивались вычислением коэффициента линейной корреляции Пирсона, для интервальных и порядковых переменных, не подчиняющихся нормальному распределению, – ранговым коэффициентом корреляции Спирмена. Для установления возможности различения пациентов с АИГ от здоровых лиц при использовании электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов применяли дискриминантный анализ методом частичных наименьших квадратов (partial least squares discriminant analysis – ortho-PLS-DA). Параметры эритроцитов, являющиеся потенциальными биомаркерами для различения АИГ на фоне инфекции *H. pylori* (АИГ, Н.р. (+)) и без нее (АИГ, Н.р. (–)), выявляли с использованием метода Volcano plot (непарная статистика) (применено программное обеспечение MATLAB (R2019a, MathWorks) и язык программирования R).

## Результаты и их обсуждение

Среди пациентов с АИГ *H. pylori* были инфицированы 34 (46,6 %). Анемия различного генеза установлена у 35 (47,3 %), при этом в группе АИГ, Н.р. (–) она выявлена у 22 человек (56,4 %), в группе АИГ, Н.р. (+) – у 13 (38,2 %) ( $p < 0,062$ ). Уровень гемоглобина у пациентов группы АИГ, Н.р. (–) был достоверно ниже, чем в контроле ( $p < 0,05$ ). В 18 случаях (26,02 %) анемия имела смешанный генез (у 17 человек ЖД и дефицит витамина В<sub>12</sub>, в одном случае – дефицит В<sub>12</sub> в сочетании с анемией хронического заболевания), у двух пациентов (2,7 %) обнаружена «чистая» В<sub>12</sub>-дефицитная анемия, в 14 случаев – ЖДА. Анемия легкой степени выявлена у 31 пациента (41,9 %), средней степени – у 4 (5,4 %), тяжелой анемии у обследованных не было.

У 60 (81,1 %) человек с АИГ обнаружен ЖД, в группе Н.р. (–) он был у 27 больных (79,4 %), в группе Н.р. (+) – у 33 (82,5) ( $p = 0,562$ ). Содержание сывороточного железа было достоверно меньше в основной группе, чем в контроле ( $p < 0,05$ ). Средний корпускулярный объем эритроцитов и среднее содержание гемоглобина в эритроците значимо не различались во всех группах. У 38 человек с АИГ (51,4 %) выявлен дефицит витамина В<sub>12</sub>, он достоверно чаще выявлялся в группе АИГ, Н.р. (–), чем в группе АИГ, Н.р. (+) (соответственно 25 (62,5 %) и 13 человек (38,2 %),  $p = 0,027$ ).

В основной группе содержание пепсиногена I составило 10,8 [5,1; 22,9] мг/л, что свидетельствует о выраженной фундальной атрофии. Уровень пепсиногена I и соотношение пепсиноген I / пепсиноген II были достоверно ниже, чем в контрольной группе ( $p < 0,0001$ ), при этом концентрация гастрина 17 оказалась значимо больше в группе пациентов с АИГ в сравнении со здоровыми лицами (соответственно 43,3 [39,4; 47,6] и 2,31 [1,13; 5,74] пмоль/л,  $p < 0,0001$ ). По данным морфологического исследования у большей части обследованных были выявлены признаки атрофии и метаплазии легкой и умеренной степени, достоверных различий между группами АИГ, Н.р. (–) и АИГ, Н.р. (+) не получено. У 30 (40,5 %) пациентов с АИГ выявлен аутоиммунный тиреоидит со снижением функции щитовидной железы. У больных АИГ достоверно выше титр АПК и АТПО, чем в группе сравнения ( $p < 0,0001$ ). Уровни других параметров в обследованных группах были сопоставимы.

При исследовании электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов методом диэлектрофореза установлено снижение среднего диаметра клеток у пациентов с АИГ по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Отмечена тен-

денция к изменению соотношения форм клеток у пациентов с АИГ по сравнению со здоровыми лицами: снижение доли дискоцитарных, увеличение количества сфероцитарных и деформированных форм клеток, что косвенно отражает наличие дефицита внутриклеточных макроэргических соединений [9]. Показано, что АТФ-зависимая быстрая трансмембранная миграция аминокислот замедляется в клетках, дефицитных по АТФ, что нарушает поддержание мембранной асимметрии фосфолипидов клеточных мембран и приводит к изменению формы эритроцитов [10].

При анализе вязкоупругих параметров эритроцитов выявлено достоверное снижение амплитуды деформации клеток красной крови на высоких частотах электрического поля у пациентов с АИГ на фоне увеличения обобщенных показателей вязкости и жесткости по сравнению с группой контроля. Емкость клеточных мембран оказалась меньше у лиц с АИГ, чем у здоровых, а при инфицировании *H. pylori* – меньше, чем в его отсутствие (см. табл. 1). Вероятно, аутоиммунный процесс на фоне инфекции *H. pylori* ассоциирован с большим уровнем иммуноглобулинов, иммунных комплексов, адсорбция которых на мембранах клеток независимо от антигенной природы приводит к более выраженному снижению емкости мембран эритроцитов [9,11].

Рассмотрение электрических параметров эритроцитов у пациентов с АИГ выявило значительное снижение отрицательного поверхностного заряда клеток, что проявлялось уменьшением скорости движения эритроцитов к электродам и величины дипольного момента (см. табл. 1). Скорость движения эритроцитов к электродам и величина дипольного момента оказались меньше в группе АИГ, Н.р. (+) по сравнению с АИГ, Н.р. (–). Возможно, степень «экранирования» отрицательных зарядов на поверхности мембран эритроцитов более выражена в случае сочетания АИГ с инфекцией *H. pylori*, поскольку уровень антигенной «нагрузки» возрастает [12]. Снижение поверхностного заряда эритроцитов ассоциировано с повышенным образованием агрегатов, поэтому увеличение индекса агрегации у пациентов с АИГ вполне закономерно. Положение равновесной частоты в обследованных группах не различалось. Эритроциты пациентов с АИГ отличались повышенной электропроводностью по сравнению с показателями здоровых лиц (см. табл. 1). Изменение данного показателя является косвенным признаком изменений в структуре мембран эритроцитов, в том числе соотношения фракций фосфолипидов, эфиров холестерина, жирных кислот, активности мембранно-связан-

**Таблица 1.** Морфометрические, электрические и вязкоупругие показатели эритроцитов у пациентов с АИГ и в группе сравнения

**Table 1.** Morphometric, electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes in patients with autoimmune gastritis and in the control group

Показатель	Группа сравнения, n = 38	Пациенты с АИГ (общая группа), n = 73	Пациенты с АИГ, Н. п. (-), n = 39	Пациенты с АИГ, Н. п. (+), n = 34
Средний диаметр эритроцита, мкм	7,56 [7,54; 7,58]	7,50**** [7,48; 7,52]	7,5**** [7,48; 7,52]	7,5**** [7,48; 7,53]
Доля дискоцитов, %	74,3 [72,5; 80,8]	65,2 [60,2; 70,1]	63,2 [58,9; 68,7]	61,0** [55,2; 65,3]
Доля сфероцитов, %	15,1 [10,2; 18,7]	22,7 [17,4; 28,5]	20,1 [16,2; 24,8]	25,6* [19,4; 31,8]
Доля деформированных клеток, %	12,4 [10,8; 16,1]	18,9 [14,6; 26,7]	16,6 [12,7; 22,4]	22,9* [18,1; 28,4]
Амплитуда деформации на частоте 10 <sup>6</sup> Гц, м	7,1×10 <sup>-6</sup> [6,6×10 <sup>-6</sup> ; 7,6×10 <sup>-6</sup> ]	6,2×10 <sup>-6</sup> **** [5,8×10 <sup>-6</sup> ; 6,4×10 <sup>-6</sup> ]	6,1×10 <sup>-6</sup> **** [5,7×10 <sup>-6</sup> ; 6,4×10 <sup>-6</sup> ]	6,2×10 <sup>-6</sup> **** [5,8×10 <sup>-6</sup> ; 6,4×10 <sup>-6</sup> ]
Степень изменения амплитуды деформации на частоте 0,5 × 10 <sup>6</sup> Гц, %	68 [63,8; 74]	43**** [36; 48]	43**** [36; 48]	42,5**** [36,7; 48,8]
Обобщенный показатель жесткости, Н/м	8,97×10 <sup>-6</sup> [8,72×10 <sup>-6</sup> ; 9,12×10 <sup>-6</sup> ]	9,67×10 <sup>-6</sup> **** [9,48×10 <sup>-6</sup> ; 9,84×10 <sup>-6</sup> ]	9,65×10 <sup>-6</sup> **** [9,44×10 <sup>-6</sup> ; 9,78×10 <sup>-6</sup> ]	9,68×10 <sup>-6</sup> **** [9,53×10 <sup>-6</sup> ; 9,87×10 <sup>-6</sup> ]
Обобщенный показатель вязкости, Па × с	0,68 [0,62; 0,7]	0,73**** [0,72; 0,75]	0,73**** [0,72; 0,75]	0,74**** [0,72; 0,75]
Емкость клеточной мембраны, Ф	7,19×10 <sup>-14</sup> **** [6,87×10 <sup>-14</sup> ; 7,62×10 <sup>-14</sup> ]	2,82×10 <sup>-14</sup> **** [1,86×10 <sup>-14</sup> ; 2,82×10 <sup>-14</sup> ]	5,06×10 <sup>-14</sup> **** [2,05×10 <sup>-14</sup> ; 7,96×10 <sup>-14</sup> ]	2,74×10 <sup>-14</sup> ****,### [1,44×10 <sup>-14</sup> ; 3,3×10 <sup>-14</sup> ]
Электропроводность клеток, См/м	5,48×10 <sup>-5</sup> [5,41×10 <sup>-5</sup> ; 5,66×10 <sup>-5</sup> ]	5,87×10 <sup>-5</sup> **** [5,68×10 <sup>-5</sup> ; 9,13×10 <sup>-5</sup> ]	6,11×10 <sup>-5</sup> **** [5,68×10 <sup>-5</sup> ; 9,14×10 <sup>-5</sup> ]	5,84×10 <sup>-5</sup> **** [5,68×10 <sup>-5</sup> ; 9,12×10 <sup>-5</sup> ]
Скорость движения эритроцитов к электродам, мкм/с	5,7 [5,1; 6,2]	3,6**** [3,2; 4,1]	3,7**** [3,2; 4,2]	3,4****,## [3,1; 3,7]
Равновесная частота, Гц	0,47×10 <sup>6</sup> [0,42×10 <sup>6</sup> ; 0,52×10 <sup>6</sup> ]	0,41×10 <sup>6</sup> [0,29×10 <sup>6</sup> ; 0,98×10 <sup>6</sup> ]	0,37×10 <sup>6</sup> [0,29×10 <sup>6</sup> ; 1,04×10 <sup>6</sup> ]	0,41×10 <sup>6</sup> [0,33×10 <sup>6</sup> ; 0,94×10 <sup>6</sup> ]
Дипольный момент, Кл/м	7,05×10 <sup>-21</sup> [3,37×10 <sup>-21</sup> ; 7,69×10 <sup>-21</sup> ]	4,14×10 <sup>-21</sup> **** [3,57×10 <sup>-21</sup> ; 4,74×10 <sup>-21</sup> ]	4,72×10 <sup>-21</sup> **** [4,25×10 <sup>-21</sup> ; 5,12×10 <sup>-21</sup> ]	3,52×10 <sup>-21</sup> ****,### [3,0×10 <sup>-21</sup> ; 4,01×10 <sup>-21</sup> ]
Индекс агрегации эритроцитов, усл. коэффициент	0,61 [0,58; 0,61]	0,64** [0,63; 0,70]	0,64** [0,62; 0,69]	0,64** [0,63; 0,72]

**Примечание.** Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей группы сравнения (\* – при  $p < 0,05$ , \*\* – при  $p < 0,01$ , \*\*\* – при  $p < 0,001$ , \*\*\*\* – при  $p < 0,0001$ ) и пациентов с АИГ, Н.п. (-) (# – при  $p < 0,05$ , ## – при  $p < 0,01$ , ### – при  $p < 0,01$ ).

ных вискозизависимых ферментов [13], что согласуется с данными литературы о сдвигах структурных параметров эритроцитов при АИГ [14].

Пациенты с АИГ имели эритроциты, склонные к гемолизу на различных частотах электрического поля (табл. 2). Индекс деструкции эритроцитов оказался выше при АИГ на частотах  $0,5 \times 10^6$ ,  $0,1 \times 10^6$ ,  $0,05 \times 10^6$  Гц, чем в контрольной группе, что может быть обусловлено снижением резистентности клеток красной крови [15].

У пациентов обследованных групп проанализированы показатели поляризуемости на разных частотах электрического поля, которые отражают степень жизнеспособности клеток красной крови (см. табл. 2). У больных АИГ поляризуемость эритроцитов на высоких частотах ( $10^6$  и  $0,5 \times 10^6$  Гц) оказалась достоверно меньше ( $p = 0,001-0,002$ ), а на низкой частоте  $0,1 \times 10^6$  Гц – больше, чем у здоровых лиц. Относительная поляризуемость была выше в группе контроля, чем у пациентов с АИГ ( $p = 0,021$ ), преимущественно в группе АИГ,

**Таблица 2.** Индекс деструкции и поляризуемость эритроцитов у пациентов с АИГ и в группе сравнения  
**Table 2.** Erythrocyte destruction index and polarizability in patients with autoimmune gastritis and in the control group

Показатель	Группа сравнения, <i>n</i> = 38	Пациенты с АИГ (общая группа), <i>n</i> = 73	Пациенты с АИГ, Н. р. (-), <i>n</i> = 39	Пациенты с АИГ, Н. р. (+), <i>n</i> = 34
Индекс деструкции эритроцитов, %				
на частоте $10^6$ Гц	2,3 [1,4; 2,5]	3,7 [1,8; 4,3]	2,1 [1,7; 2,1]	2,8 [1,4; 2,8]
на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц	0,09 [0,06; 0,12]	1,70** [1,60; 2,80]	1,48* [1,40; 1,95]	1,60* [1,40; 1,70]
на частоте $0,1 \times 10^6$ Гц	0,07 [0,04; 0,09]	2,05** [1,63; 3,3]	1,63* [1,20; 2,55]	2,00* [1,68; 2,48]
на частоте $0,5 \times 10^5$ Гц	0,03 [0,02; 0,08]	2,70** [1,73; 4,25]	3,10*** [1,77; 4,55]	1,85* [1,38; 5,33]
Поляризуемость эритроцитов, $\times 10^{-15}$ м <sup>3</sup>				
на частоте $10^6$ Гц	6,3 [5,2; 7,6]	4,0** [2,6; 5,1]	4,0** [2,8; 5,2]	4,0** [2,5; 4,8]
на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц	5,9 [4,8; 8,3]	3,5*** [2,6; 5,4]	3,5*** [2,7; 5,4]	3,3*** [2,4; 5,9]
на частоте $0,1 \times 10^6$ Гц	-5,6 [-3,9; -9,1]	-4,1* [-2,7; -6,6]	-4,1** [-2,9; -5,9]	-4,1** [-2,2; -8,4]
на частоте $0,05 \times 10^6$ Гц	-4,8 [-3,0; -8,9]	-3,9 [-3,0; -5,6]	-4,5 [-3,1; -5,5]	-3,4 [-2,9; -5,8]
Относительная поляризуемость	1,27 [0,88; 1,51]	0,86* [0,60; 1,35]	0,93 [0,64; 1,54]	0,80** [0,44; 1,21]

**Примечание.** Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей группы сравнения: \* – при  $p < 0,05$ , \*\* – при  $p < 0,01$ , \*\*\* – при  $p < 0,001$ .

Н. р. (+) ( $p = 0,008$ ). Отклонения параметров поляризуемости косвенно свидетельствуют о нарушении этапов созревания клеток красной крови при АИГ [1]. Данный параметр очень чувствителен к воздействию на клетку внешних факторов, его изменение происходит в короткие сроки и ассоциировано с пространственным перераспределением электрических зарядов эритроцита [16]. Уменьшение относительной поляризуемости у пациентов с АИГ ассоциировано со снижением адаптационных возможностей эритроцитов [13].

У пациентов с АИГ проведен анализ корреляций электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с клинико-биохимическими, иммунологическими и гормональными параметрами. Наиболее тесные ассоциации степени атрофии антрального отдела, тела желудка установлены со средним диаметром эритроцитов, степенью и амплитудой их деформации на высоких частотах, обобщенными показателями вязкости и жесткости, электропроводностью, скоростью движения клеток к электродам, величиной дипольного момента, поляризуемостью на частотах  $10^6$  и  $0,5 \times 10^6$  Гц, индексом агрегации. Очевидно, на степень выраженности атрофии, кроме воз-

действия АПК и антител к внутреннему фактору Касла, *H. pylori*, влияют микроциркуляторные нарушения, связанные с изменением структурно-функциональных параметров эритроцитов [17]. Следует отметить, что наличие полипов в желудке также оказалось связанным с большей жесткостью клеток красной крови со сниженной резистентностью, их склонностью к образованию агрегатов в связи со уменьшением поверхностного заряда эритроцитов.

Наличие дефицита витамина  $B_{12}$  коррелировало с увеличением диаметра ( $r = 0,275$ ;  $p = 0,004$ ) и уменьшением деформабельности эритроцитов ( $r = -0,363$ ;  $p = 0,0001$ ). Обнаружена ассоциация  $B_{12}$ -дефицита с высокой электропроводностью ( $r = 0,310$ ;  $p = 0,001$ ) и низкой емкостью ( $r = -0,275$ ;  $p = 0,004$ ), косвенно отражающая существенные сдвиги в структуре мембран эритроцитов, что согласуется с данными других авторов [1, 18]. Титр АПК и антител к внутреннему фактору Касла был связан с изменением формы эритроцитов, уровнем электропроводности, поляризуемости на низкой частоте  $0,05 \times 10^6$  Гц и в большей степени с величиной емкости мембран клеток, скоростью их движения к электродам и дипольным моментом ( $p < 0,0001$ ). С теми же электрическими и

вязкоупругими параметрами эритроцитов коррелировало и содержание других крупномолекулярных белков – СРБ, ферритина, IgG к *H. pylori*, CagA. Можно предположить, что повышенный уровень белков, иммуноглобулинов, иммунных комплексов существенно модифицирует поверхностную структуру мембран эритроцитов, сказываясь на значениях их параметров. Вероятно, этим можно объяснить выявленные различия в величинах скорости движения клеток к электродам, дипольного момента и емкости мембран между группами АИГ, Н.р. (–) и АИГ, Н.р. (+). В случае сочетания АИГ с инфекцией к *H. pylori* уровень антигенов, вероятно, выше, что сказывается на вышеуказанных электрических параметрах эритроцитов. Следует заметить, что одновременное протекание АИГ и инфекции *H. pylori* ассоциировано со снижением размеров клеток, способности эритроцитов к деформации, более низким зарядом, увеличением количества сфероцитов, деформированных клеток, повышенной электропроводностью и склонностью к образованию агрегатов ( $r = -0,018$ ,  $p = 0,0001$ ).

Наличие ЖД оказалось обратно связанным с размерами эритроцитов, амплитудой деформации клеток на высоких частотах, емкостью мембран, скоростью движения к электродам, дипольным моментом, поляризуемостью и, напротив, прямо коррелировало с уровнем деформированных клеток с повышенными обобщенными жесткостью, вязкостью, электропроводностью, индексом агрегации и деструкции на низких частотах ( $r = -0,033$ ;  $p = 0,0001$ ). Полученные данные согласуются с результатами R. Yip et al., которые выявили уменьшение деформируемости эритроцитов, коррелирующее со степенью ЖД. Авторы установили повышенное сшивание мембранных липидов и белков и снижение содержания внутриклеточных катионов, увеличение жесткости мембран эритроцитов, ассоциированное с усилением перекисного окисления липидов [19]. М.М. Brandão et al. показали зависимость деформируемости эритроцитов от уровня гемоглобина, а также продемонстрировали влияние ЖД на эластичность клеток красной крови при разных скоростях сдвига [15].

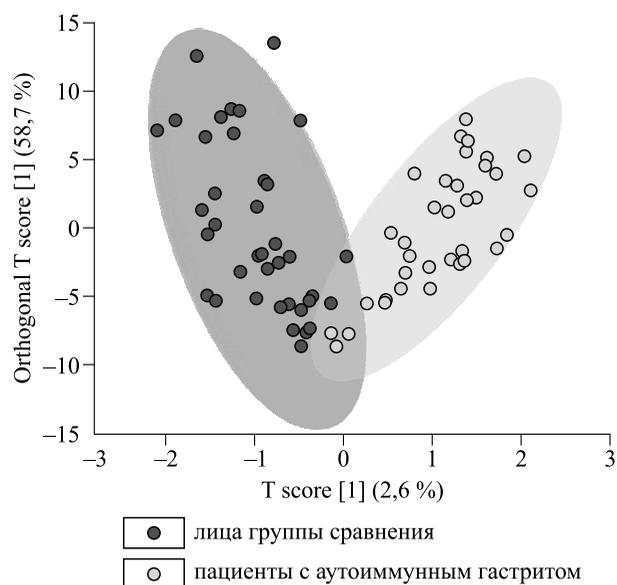
Установлены корреляции электрических и вязкоупругих параметров с маркерами воспаления. Наиболее значимыми оказались характеристики эритроцитов, отражающие их резистентность, – индекс деструкции на низких частотах, поляризуемость и состояние мембран, включая величину поверхностного отрицательного заряда клеток красной крови – доля деформированных клеток, электропроводность, емкость мембран,

скорость движения к электродам ( $r = -0,041$ ;  $p = 0,023$ ).

Наличие аутоиммунного тиреоидита, гипofункции щитовидной железы ассоциировано со снижением диаметра клеток красной крови, их деформабельности, заряда мембран, поляризуемости, повышенной склонности к агрегации и деструкции ( $r = 0,053$ ;  $p = 0,023$ ). Выявлены связи уровня ТТГ с положением равновесной частоты, поляризуемостью на  $0,1 \times 10^6$  Гц, относительной поляризуемостью ( $r = -0,052$ ;  $p = 0,0001$ ). Корреляции уровней ТТГ и АТПО с индексами деструкции на частоте  $10^6$  Гц и  $0,1 \times 10^6$  Гц оказались сильными и прямыми ( $r = 0,587$ ;  $p = 0,045$  и  $r = 0,582$ ;  $p = 0,009$  соответственно).

Возможности различения пациентов с АИГ от здоровых лиц на основании уровней электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов при применении непарной статистики модифицированным методом главных компонент (ortho-PLS-DA) представлены на рис. 1. Кроме пересекающейся области, отражающей совпадающие по уровню параметры эритроцитов, отчетливо видны отличающиеся характеристики.

Проведенный ROC-анализ обобщенных показателей жесткости и вязкости эритроцитов продемонстрировал высокую точность различия па-



**Рис. 1.** Метод ortho-PLS-DA в различении пациентов с АИГ (правое облако) от здоровых лиц (левое облако) на основании уровней электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов (непарная статистика)

**Fig. 1.** The ortho-PLS-DA method in distinguishing patients with autoimmune gastritis (right cloud) from healthy individuals (left cloud) based on the levels of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes (unpaired statistics)

**Таблица 3.** Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, исследованные методом Volcano plot, как потенциальные биомаркеры для различения пациентов АИГ, Н. р. (+) и АИГ, Н. р. (-)

**Table 3.** Electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes, studied by the Volcano plot method (unpaired statistics) as potential biomarkers to distinguish patients with AIG, H. p. (+) and AIG, H. p. (-)

Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов	Кратность изменений (FC)	$\log_2(FC)$	$p$	$-\log_{10}(p)$
Дипольный момент, Кл × м	0,7752	-0,3672	0,0007	3,0969
Скорость движения эритроцитов к электродам, мкм/с	0,5231	-0,6902	0,0034	2,692
Емкость клеточной мембраны, Ф	0,4982	-1,0049	0,0074	2,1267

пациентов с АИГ от здоровых лиц (больные АИГ, Н. р. (-) и группа сравнения: площадь под ROC-кривой AUC 0,975 и 0,963, чувствительность 92,3 и 88,4 %, специфичность 91,1 и 85,2 %); больные АИГ, Н. р. (+) и группа сравнения: AUC 0,965 и 0,932, чувствительность 85,2 и 79,4 %, специфичность 97,1 и 91,1 % соответственно). Также высокоинформативным для дифференцирования пациентов с АИГ от здоровых лиц оказался такой показатель, как амплитуда деформации эритроцитов на частоте  $10^6$  Гц (больные АИГ, Н. р. (-) и группа сравнения: AUC 0,973, чувствительность 93 %, специфичность 85,5 %; больные АИГ, Н. р. (+) и группа сравнения: AUC 0,949, чувствительность 97,1 %, специфичность 82,3 %).

Применение метода Volcano plot (непарная статистика) позволило установить три показателя эритроцитов, потенциальных маркеров для различения больных АИГ, Н.р. (+) и АИГ, Н.р. (-): дипольный момент, скорость движения клеток к электродам, емкость мембран эритроцитов (табл. 3).

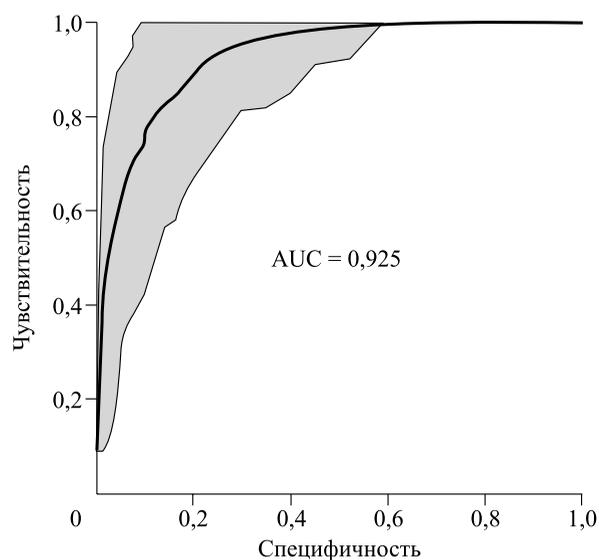
Для дифференцирования пациентов с АИГ с инфекцией *H. pylori* или без нее выполнен ROC-анализ комбинации показателей – емкости мембран эритроцитов, скорости движения клеток к электродам и дипольного момента (рис. 2). Создание модели, состоящей из совокупности вышеуказанных параметров эритроцитов, обеспечило более высокий уровень диагностической точности, чем параметры по отдельности.

### Заключение

Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с АИГ выявило снижение среднего диаметра клеток, доли дискоцитарных форм и повышение доли сфероцитарных, деформированных клеток, преимущественно в группе пациентов с АИГ Н. р. (+) по сравнению со здоровыми лицами. У больных АИГ были меньше, чем в группе сравнения, амплитуда деформации, емкость мембран, дипольный момент, скорость движения клеток к

электродам, поляризуемость на высоких частотах электрического поля ( $10^6$ ,  $0,5 \times 10^6$  Гц), относительная поляризуемость и, напротив, больше электропроводность мембран, индексы агрегации, деструкции, обобщенные показатели вязкости и жесткости ( $p < 0,0001-0,05$ ). Наиболее выраженные различия в параметрах эритроцитов между пациентами с АИГ в отсутствие и в присутствии инфекции *H. pylori* выявлены в уровнях показателей, отражающих поверхностный заряд эритроцитов – скорость движения к электродам ( $p = 0,019$ ), дипольный момент ( $p < 0,001$ ) и состояние мембран – емкость ( $p = 0,004$ ).

У больных АИГ установлены корреляции электрических и вязкоупругих параметров эри-



**Рис. 2.** ROC-кривая комплексной модели, включающей дипольный момент, скорость движения клеток к электродам, емкость клеточной мембраны, для различения пациентов АИГ, Н.р. (+) и АИГ, Н.р. (-): AUC 0,925, чувствительность 92,4 %, специфичность 89,7 %

**Fig. 2.** ROC curve of a complex model, including the dipole moment, the speed of cell movement to electrodes, the capacity of the cell membrane, to distinguish patients AIG, H.p. (+) and AIG, H.p. (-): AUC 0.925, sensitivity 92.4 %, specificity 89.7 %

троцитов с клинико-биохимическими показателями, в том числе отражающими состояние слизистой оболочки желудка, с уровнем АПК и антител внутреннему фактору Касла. Показаны возможности вязкоупругих показателей в дифференцировании пациентов с АИГ от здоровых лиц. В различении пациентов АИГ в сочетании с инфекцией *H. pylori* по сравнению с больными с АИГ без инфекции *H. pylori* наиболее перспективными оказались величина дипольного момента, емкость мембран эритроцитов, скорость движения клеток к электродам. Построение диагностической модели, включающей все три вышеописанных параметра эритроцитов, обеспечило повышение диагностической точности такого различения.

Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов перспективны в диагностике АИГ, в том числе на фоне инфекции *H. pylori*.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания «Совершенствование методов диагностики, профилактики и лечения больных распространенными заболеваниями желудочно-кишечного тракта в Сибири» (FWNR-2022-0030).

## Список литературы / References

1. Лосик Е.А., Ивашкин В.Т. Гематологические проявления аутоиммунного гастрита. *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2016; 26(1):37–43. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-1-37-43
2. Losik Ye.A., Ivashkin V.T. Hematological manifestations of autoimmune gastritis. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2016;26(1):37–43. [In Russian].
3. Rustgi S.D., Bijlani P., Shah S.C. Autoimmune gastritis, with or without pernicious anemia: epidemiology, risk factors, and clinical management. *Therap. Adv. Gastroenterol.* 2021;14: 17562848211038771. doi:10.1177/17562848211038771
4. Zhang Z.W., Patchett S.E., Perrett D., Katelaris P.H., Domizio P., Farthing M.J.G. The relation between gastric vitamin C concentrations, mucosal histology, and CagA seropositivity in the human stomach. *Gut.* 1998;43:322–326. doi: 10.1136/gut.43.3.322
5. Hudak L., Jaraisy A., Haj S., Muhsen K. An updated systematic review and meta-analysis on the association between *Helicobacter pylori* infection and iron deficiency anemia. *Helicobacter.* 2017;22(1). doi: 10.1111/hel.12330
6. Генералов В.М., Кручинина М.В., Дурманов А.Г., Медведев А.А., Сафатов А.С., Сергеев А.Н., Буряк Г.А., Курилович С.А., Громов А.А. Диэлектрофорез в диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний. Новосибирск: ЦЭРИС, 2011. 172 с.
7. Generalov V.M., Kruchinina M.V., Durymanov A.G., Medvedev A.A., Safatov A.S., Sergeev A.N., Buryak G.A., Kurilovich S.A., Gromov A.A. Dielectrophoresis for diagnostics of infectious and non-infectious diseases. Novosibirsk: CERIS, 2011. 172 p. [In Russian].
8. Shah S.C., Piazuolo M.B., Kuipers E.J., Li D. AGA clinical practice update on the diagnosis and management of atrophic gastritis: expert review. *Gastroenterology.* 2021;161(4):1325–1332.e7. doi: 10.1053/j.gastro.2021.06.078
9. World Health Organization. Nutritional anaemias: Report of a WHO scientific group. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1968. Available at: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40707/WHO\\_TRS\\_405.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40707/WHO_TRS_405.pdf?sequence=1)
10. Sugano K., Tack J., Kuipers E.J., Graham D.Y., El-Omar E.M., Miura S., Haruma K., Asaka M., Uemura N., Malfertheiner P; faculty members of Kyoto Global Consensus Conference. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut.* 2015;64(9):1353–1367. doi: 10.1136/gutjnl-2015-309252
11. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Физиология и патофизиология эритроцита. Томск: ТГУ, 2004. 202 с.
12. Novickij V.V., Ryazanceva N.V., Stepovaya E.A. Physiology and pathophysiology of the erythrocyte. Tomsk: TGU, 2004. 202 p. [In Russian].
13. Липунова Е.А., Скоркина М.Ю. Система красной крови: сравнительная физиология. Белгород: Изд-во БелГУ, 2004. 235 с.
14. Lipunova E.A., Skorkina M.Yu. The red blood system: comparative physiology. Belgorod: BelGU, 2004. 235 p. [In Russian].
15. Шиффман Ф.Дж. Патофизиология крови. М.-СПб.: БИНОМ, 2000. 448 с.
16. Schiffman F.J. Hematologic pathophysiology. Moscow–Saint-Petersburg: BINOM, 2000. 448 p. [In Russian].
17. Bergman M.P., Vandenbroucke-Grauls C.M., Appelmelk B.J., D’Elios M.M., Amedei A., Azzurri A., Benagiano M., Del Prete G. The story so far: *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity. *Int. Rev. Immunol.* 2005;24(1-2):63–91. doi: 10.1080/08830180590884648
18. Генералов В.М., Кручинина М.В., Громов А.А., Шувалов Г.В. Диэлектрофорез в биологии и медицине: учеб. пособие. Новосибирск: НГТУ, 2017. 179 с.
19. Generalov V.M., Kruchinina M.V., Gromov A.A., Shuvalov G.V. Dielectrophoresis in biology and medicine: Tutorial. Novosibirsk: NGTU, 2017. 179 p. [In Russian].
20. Kovacheva-Slavova M., Angelov T., Valkov H., Iliev H., Vladimirov B. Current view on autoimmune

gastritis, gastritis. *Gastritis – New Approaches and Treatments*. 2019;264. doi: 10.5772/intechopen.87006

15. Brandão M.M., Castro M.L., Fontes A., Cesar C.L., Costa F.F., Saad S.T. Impaired red cell deformability in iron deficient subjects. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2009;43(3):217–221. doi: 10.3233/CH-2009-1211

16. Generalov K., Generalov V.M., Kruchinina M.V., Shuvalov G.V., Buryak G.A., Safatov A.S. Method for measuring the polarizability of cells in an inhomogeneous alternating electric field. *Measurement Techniques*. 2017;60(1):82–86.

17. Botezatu A., Bodrug N. Chronic atrophic gastritis: an update on diagnosis. *Med. Pharm. Rep.* 2021;94(1):7–14. doi: 10.15386/mpr-1887

18. Fernandes H.P., Cesar C.L., Barjas-Castro M. Electrical properties of the red blood cell membrane and immunohematological investigation. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2011;33(4):297–301. doi: 10.5581/1516-8484.20110080

19. Yip R., Mohandas N., Clark M.R., Jain S., Shohet S.B., Dallman P.R. Red cell membrane stiffness in iron deficiency. *Blood*. 1983;62(1):99–106.

#### **Информация об авторах:**

**Мargarita Витальевна Кручинина**, д.м.н., ORCID: 0000-0003-0077-3823, e-mail: kruchmargo@yandex.ru

**Анна Владимировна Белковец**, д.м.н., ORCID: 0000-0002-2610-1323, e-mail: belkovets@gmx.de

**Наталья Владимировна Ожиганова**, ORCID: 0000-0003-4516-6859, e-mail: natalya.safyanova@mail.ru

**Лилия Валерьевна Щербакова**, ORCID: 0000-0001-9270-9188, e-mail: 9584792@mail.ru

#### **Information about the authors:**

**Margarita V. Kruchinina**, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0077-3823, e-mail: kruchmargo@yandex.ru

**Anna V. Belkovets**, doctor of medical science, ORCID: 0000-0002-2610-1323, e-mail: belkovets@gmx.de

**Natalia V. Ozhiganova**, ORCID: 0000-0003-4516-6859, e-mail: natalya.safyanova@mail.ru

**Lilia V. Shcherbakova**, ORCID: 0000-0001-9270-9188, e-mail: 9584792@mail.ru

*Поступила в редакцию 02.09.2022*

*После доработки 16.09.2022*

*Принята к публикации 26.09.2022*

*Received 02.09.2022*

*Revision received 16.09.2022*

*Accepted 26.09.2022*