



**UNIVERSITY  
OF LATVIA**

**Promocijas darba  
kopsavilkums**

---

**Summary  
of Doctoral Thesis**

**Danute Ražuka-Ebela**

**POPULĀCIJAI PIELĀGOTA  
PIEEJA PEPSINOĢĒNU TESTA  
UZLABOŠANAI KUŅĢA  
PRIEKŠVĒŽA STĀVOKĻU  
DIAGNOSTIKĀ**

**A POPULATION TAILORED APPROACH  
TO IMPROVE THE PERFORMANCE  
OF PEPSINOGEN TESTING FOR  
PRECANCEROUS GASTRIC LESIONS**

**Rīga 2023**



# LATVIJAS UNIVERSITĀTE

KLĪNISKĀS UN PROFILAKTISKĀS MEDICĪNAS INSTITŪTS  
MEDICĪNAS FAKULTĀTE

**Danute Ražuka-Ebela**

## **POPULĀCIJAI PIELĀGOTA PIEEJA PEPSINOĢĒNU TESTA UZLABOŠANAI KUŅĢA PRIEKŠVĒŽA STĀVOKĻU DIAGNOSTIKĀ**

PROMOCIJAS DARBA KOPSAVILKUMS

Zinātnes doktora grāda (Ph.D.) iegūšanai  
medicīnas un veselības zinātnēs  
klīniskās medicīnas nozarē  
Apakšnozare: internā medicīna

Rīga 2023

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Universitātes Klīniskās un profilaktiskās medicīnas institūtā laika posmā no 2016. gada līdz 2023. gadam.

Eiropas Sociālā fonda projekts "LU doktorantūras kapacitātes stiprināšana jaunā doktorantūras modeļa ietvarā" nr. 8.2.2.0/20/I/006.



**LATVIJAS  
UNIVERSITĀTE**

IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

Darbs sastāv no vispārīgā darba raksturojuma, piecām nodaļām, literatūras saraksta un trim pielikumiem.

Darba forma: publikāciju kopa zinātnes doktora grāda (Ph.D.) iegūšanai medicīnas un veselības zinātnēs, klīniskās medicīnas nozarē, internās medicīnas apakšnozarē

Darba zinātniskie vadītāji: *Dr. med.* profesors **Mārcis Leja**;  
*Dr. phil.* **Jin Young Park**.

Darba zinātniskā konsultante: *Dr. med.* asociētā profesore **Inguna Ebela**.

Darba recenzenti:

**Aldis Puķītis**, *Dr. med.* profesors, Latvijas Universitāte;

**Colm O'Morain**, *Dr. med.* profesors, Trinity College (Īrija);

**Juris Pokrotnieks**, *Dr. med.* profesors, Rīgas Stradiņa universitāte.

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2023. gada 16. jūnijā LU Zinātnes mājā, Jelgavas ielā 3, 301. auditorijā pulksten 14:00 Latvijas Universitātes Medicīnas un veselības zinātņu nozares promocijas padomes atklātā sēdē.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes Bibliotēkā Rīgā, Raiņa bulvārī 19.

LU medicīnas un veselības zinātņu nozares  
promocijas padomes priekšsēdētājs

\_\_\_\_\_/ Valdis Pīrāgs/  
(paraksts)

promocijas padomes sekretāre

\_\_\_\_\_/ Līga Plakane/  
(paraksts)

© Latvijas Universitāte, 2023

© Danute Ražuka-Ebela, 2023

ISBN 978-9934-36-015-2

ISBN 978-9934-36-016-9 (PDF)

## ANOTĀCIJA

Latvijā ir augsta *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infekcijas un ar to saistītās kuņģa gļotādas atrofijas un kuņģa vēža izplatība. Lai gan līdz pat 89% no ne-kardijas kuņģa vēža gadījumiem pasaulē saistīti ar *H. pylori*, vairumam cilvēku ar šo infekciju kuņģa vēzis dzīves laikā neattīstīsies. Šis apstāklis atstāj vietu virknei citu faktoru, kuriem varētu būt svarīga loma kuņģa priekšvēža stāvokļu attīstībā. Pepsinogēnu noteikšana serumā ir labākā šobrīd pieejamā neinvazīvā metode kuņģa gļotādas stāvokļa izzināšanai. Tomēr pepsinogēniem piemīt mērena diagnostiska nozīme kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā un pētījumos vērojama būtiska datu atšķirība, kas varētu būt saistīta ar dažādu populāciju īpatnībām. Nav pieejami liela mēroga pētījumi par to, vai balstoties uz konkrētiem populācijas faktoriem varētu pielāgot un uzlabot pepsinogēnu diagnostiku.

Balstoties uz iepriekšminētajiem apstākļiem, izvirzīts darba virsmērķis, kura sasniegšana varētu dot kliniski izmantojamu pienesumu – izstrādāt populācijai pielāgotu pieeju kuņģa priekšvēža stāvokļu seroloģiskā skrīninga uzlabošanai, identificējot ar *H. pylori* un kuņģa atrofijas izplatību saistītus socioekonomiskus un dzīvesveida faktoros un līdz ar to populācijas riska grupas.

Darbs tika izstrādāts “GISTAR – daudzcentru randomizēts pētījums kuņģa vēža izraisītās mirstības samazināšanai, veicot *H. pylori* eradikāciju un nosakot pepsinogēnu līmeni” ietvaros sadarbībā ar Pasaules veselības organizācijas Starptautiskās vēža izpētes aģentūras pārstāvjiem. Latvijā no pētījuma dalībniekiem tika ievākti dati par socioekonomiskiem, ar dzīvesveida paradumiem un slimību anamnēzi saistītiem faktoriem, noteikta *H. pylori* infekcija ar <sup>13</sup>C-urea elptestu un IgG antivielām, kā arī pepsinogēnu līmenis serumā. Pētījuma dalībniekiem, kuru rādītāji atbilda seroloģiskai kuņģa atrofijai ( $\text{Pgl/PgII} \leq 2$  un  $\text{Pgl} \leq 30$  ng/mL), tika veikta augšējā endoskopija ar biopsiju.

Darbā ietverti vairāki izpētes etapi. Sākotnēji tika identificēti ar *H. pylori* izplatību un tad ar seroloģiski noteiktu kuņģa atrofiju saistīti populācijas faktori (socioekonomiskie, dzīvesveida un anamnēzes). Atrastas vairākas sakarības, kuras, pretstatā populāriem uzskatiem, izteiktāk norāda tieši uz dzīvesveida, nevis socioekonomisko faktoru saistību ar *H. pylori*.

Balstoties uz atrastajām sakarībām, tika atlasīti un pētīti faktori, kas saistīti ar kļūdaini negatīviem pepsinogēnu testa gadījumiem (kad ar pepsinogēnu noteikšanu serumā netika identificēts kuņģa priekšvēža stāvoklis). Kļūdaini negatīvu testa rezultātu risku būtiski palielināja *H. pylori* infekcija, smēķēšana, alkohola patēriņš un atvīņņa ezofagīts.

*H. pylori* infekcija un smēķēšana bija cieši saistīti ar pepsinogēnu testa zemāku precizitāti. Padziļinātā izpētē vērojama *H. pylori* un smēķēšanas savstarpēji saistīta ietekme uz pepsinogēnu vērtībām. Aprēķinos atsevišķi izdalot smēķētājus pēc *H. pylori* infekcijas klātbūtnes, izdevās aprēķināt jaunas pepsinogēnu robežvērtības, uzlabojot pepsinogēna testa precizitāti.

# SATURS/

ANOTĀCIJA .....	3
VISPĀRĪGAIS DARBA RAKSTUROJUMS .....	7
Izvēlētās tēmas aktualitāte un pētījuma novitāte .....	7
Darba mērķis .....	8
Darba uzdevumi .....	8
Hipotēzes .....	8
Metožu raksturojums .....	9
Promocijas darba rezultātu aprobācija .....	9
1. PĒTĪJUMA TEORĒTISKAIS PAMATOJUMS .....	12
1.1. <i>Helicobacter pylori</i> un populācijas faktori .....	12
1.2. <i>Helicobacter pylori</i> , kuņģa gļotādas atrofija un kuņģa vēzis ....	13
1.3. Kuņģa gļotādas atrofijas riska faktori .....	14
1.4. Kuņģa gļotādas morfoloģiskā stāvokļa izvērtēšana nosakot pepsinogēnus serumā .....	15
1.5. Pepsinogēnu vērtību ietekmējošie faktori .....	16
2. MATERIĀLI UN METODEDES .....	18
2.1. Pētāmā populācija .....	18
2.2. Dalībnieku anketēšana .....	18
2.3. Instrumentālie dati .....	19
2.4. Statistiskā analīze .....	20
3. REZULTĀTI .....	23
3.1. Ar <i>H. pylori</i> izplatību saistītie populācijas faktori .....	23
3.2. Seroloģiski noteikta kuņģa atrofija un populācijas faktori .....	25
3.3. Kļūdaini negatīvi testa gadījumi un populācijas faktori .....	26
3.4. Populācijas faktori un atšķirības pepsinogēnu vērtībās .....	28
3.5. Faktoru ietekme uz pepsinogēnu testa precizitāti kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā un pepsinogēnu vērtību pielāgošana .....	30

4. DISKUSIJA .....	32
4.1. <i>Helicobacter pylori</i> izplatība un populācijas faktori .....	32
4.2. Seroloģiski noteikta kuņģa atrofija un populācijas faktori .....	33
4.3. Faktoru ietekme uz pepsinogēnu testa precizitāti kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā .....	34
4.4. Pepsinogēnu testa precizitātes uzlabošana .....	36
4.5. Pētījuma priekšrocības un ierobežojumi .....	37
5. SECINĀJUMI .....	38
PATEICĪBAS .....	39
PIELIKUMI .....	40
Pielikums Nr. 1 .....	40
Referāti starptautiskās zinātniskās konferencēs ar publicētām tēzēm .....	40
Referāti starptautiskās zinātniskās konferencēs bez publicētām tēzēm .....	43
Pielikums Nr. 2 .....	44
Galvenie no aptaujas anketas iegūtie faktori (mainīgie) un to kodēšana .....	44
Pielikums Nr. 3 .....	45
Tabulas.....	45
IZMANTOTĀ LITERATŪRA .....	94

# VISPĀRĪGAIS DARBA RAKSTUROJUMS

## Izvēlētās tēmas aktualitāte un pētījuma novitāte

Nemot vērā to, ka populācijas faktori varētu noteikt iedzīvotāja piederību kādai riska grupai, tādējādi ilgtermiņā radot nevienlīdzību veselībā, Eiropā arvien pieaug preventīvās medicīnas virziens ar uzsvāru uz populācijām pielāgotām stratēģijām (PVO, 2021). Eiropas Savienības Padome nesēn pasludināja jaunu pieeju vēža skrīningam ar uzsvāru uz agrīnu diagnostiku, norādot, ka nepieciešams attīstīt kuņģa vēža novēršanas stratēģijas (Eiropas Komisija, 2022).

Latvijā ir augsta *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infekcijas un ar to saistītās kuņģa gļotādas atrofijas un kuņģa vēža izplatība (Leja *et al.*, 2017a). Vairāki pētījumi liecina par to, ka *H. pylori* infekcija ir saistīta ar kuņģa atrofiju un uzskatāma par galveno kuņģa vēža attīstības riska faktoru (Starptautiskā vēža izpētes aģentūra, 2012). Lai gan līdz pat 89% no ne-kardijas kuņģa vēža gadījumiem pasaulē zinātniski tiek saistīti ar *H. pylori*, vairumam cilvēku ar šo infekciju kuņģa vēzis dzīves laikā neattīstīsies (Plummer *et al.*, 2015, Amieva & Peek, 2016). Šis apstāklis atstāj vietu citu faktoru izpētei, kuriem varētu būt svarīga loma kuņģa priekšvēža stāvokļu attīstībā. Plašāka informācija par socioekonomiskiem, dzīvesveida un anamnēzes faktoriem, kas saistīti ar *H. pylori* infekcijas un kuņģa atrofijas izplatību populācijā, varētu palīdzēt izstrādāt konkrētai populācijai pielāgotas stratēģijas kuņģa vēža prevencei. Līdz šim pētījumi par šādiem populācijas faktoriem ir bijuši mazāka apjoma, nav ietvēruši tik lielu skaitu faktoru un pārsvarā veikti ārpus Eiropas. Ar *H. pylori* un atrofisku gastrītu saistītie faktori dažādās populācijās ir atšķirīgi un publicētie dati nereti ir pretrunīgi.

Labākā patreiz pieejamā neinvazīvā metode kuņģa gļotādas stāvokļa izziņāšanai ir pepsinogēnu (Pg) noteikšana serumā (Malfertheiner *et al.*, 2017, Malfertheiner *et al.*, 2022). Zema Pg I un Pg I/II attiecība norāda uz iespējamu kuņģa atrofiju un rādītājs var tikt izmantots, lai identificētu cilvēkus, kuriem ir paaugstināts kuņģa vēža attīstības risks, un kuriem būtu lietderīgi veikt endoskopisku izmeklēšanu (Yamaguchi *et al.*, 2016; Miki 2006). Tomēr divi meta-analizē balstīti darbi norāda, ka pepsinogēniem piemīt mērena diagnostiska nozīme kuņģa vēža un priekšvēža stāvokļu identificēšanā ar izteiktu heterogenitāti starp pētījumiem, ko varētu skaidrot gan ar atšķirībām metodoloģijā, gan ar pētāmo populāciju īpatnībām (Huang *et al.*, 2015; Bang *et al.*, 2019). Nav arī liela mēroga pētījumu par to, vai, balstoties uz konkrētiem populācijas faktoriem, varētu pielāgot un uzlabot pepsinogēnu testa nozīmi kuņģa priekšvēža stāvokļu identificēšanā.

Balstoties uz iepriekšminētajiem apstākļiem, tad arī izvirzīts darba virsmērķis, kura sasniegšana iespējams dotu pielietojamu klīnisku pienesumu – identificējot ar *H. pylori* un kuņģa atrofijas izplatību saistītus faktorus populācijā,



izstrādāt populācijai pielāgotu pieeju kuņģa priekšvēža stāvokļu seroloģiskā skrīninga uzlabošanai. Ņemot vērā, ka *H. pylori* infekcija un kuņģa priekšvēža stāvokļi (ieskaitot atrofiju), ir galvenie populācijā identificējamie riska faktori kuņģa vēža attīstībai, tie arī izvēlēti par izpētes pamatu lai identificētu un atlasītu citus riska faktoros šī darba mērķa īstenošanai.

Šī pētījuma rezultāti būtiski un ļoti specifiski papildina pieejamo informāciju par faktoriem, kas ir saistīti ar *H. pylori* un kuņģa atrofijas izplatību tieši eiropejiskā populācijā. Tie sniedz arī jaunu informāciju par smēķēšanas un *H. pylori* infekcijas mijiedarbību un no tās izrietošo ietekmi uz pepsinogēnu testa kapacitāti atklāt kuņģa priekšvēža stāvokļus. Balstoties uz pētījumā veiktajiem aprēķiniem potenciāli iespējams paaugstināt kuņģa priekšvēža stāvokļu skrīninga efektivitāti, uzlabojot pepsinogēnu testa precizitāti.

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Universitātes Kliniskās un profilaktiskās medicīnas institūtā sadarbībā ar Pasaules Veselības organizācijas Starptautiskās Vēža izpētes aģentūras pārstāvjiem (International Agency for Research on Cancer, World Health Organization).

## Darba mērķis

Identificējot ar *H. pylori* un kuņģa atrofijas izplatību saistītus socioekonomiskus un dzīvesveida faktoros populācijā, izstrādāt populācijai pielāgotu pieeju kuņģa priekšvēža stāvokļu seroloģiskā skrīninga uzlabošanai.

## Darba uzdevumi

1. Noteikt ar *H. pylori* izplatību saistītus populācijas faktoros;
2. Noteikt ar seroloģisku kuņģa atrofiju saistītus populācijas faktoros;
3. Izpētīt, vai atlasītie faktori palielina pepsinogēna testa kļūdaini negatīvu rezultātu risku kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā;
4. Izpētīt, vai un kā atlasītie faktori ietekmē pepsinogēnu testa precizitāti kuņģa priekšvēžu stāvokļu noteikšanā.

Atbilstoši uzdevumiem, darbs sadalīts četros etapos.

## Hipotēzes

1. Populāciju raksturojoši faktori ietekmē pepsinogēna testa precizitāti kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā.
2. Pepsinogēnu testa precizitāti kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā iespējams uzlabot, izmantojot populācijai pielāgotu pieeju.

## Metožu raksturojums

Darbs izstrādāts “GISTAR – daudzcentru randomizēts pētījums kuņģa vēža izraisītās mirstības samazināšanai, veicot *H. pylori* eradikāciju un nosakot pepsinogēnu līmeni” ietvaros sadarbībā ar Pasaules veselības organizācijas Starptautiskās vēža izpētes aģentūras pārstāvjiem. Randomizēti atlasītie dalībnieki no 40 līdz 64 gadu vecumam GISTAR pētījuma centros Latvijā darbinieka uzraudzībā aizpildīja anketu par sociodemogrāfiskiem faktoriem, dzīvesveida, ēšanas un smēķēšanas paradumiem, slimību anamnēzi, lietotajiem medikamentiem un vēža anamnēzi ģimenē. Šī darba gaitā iekļautie faktori balstīti uz literatūras izpēti.

GISTAR pētījuma ietvaros dalībniekiem noteikta *H. pylori* infekcija ar <sup>13</sup>C-urea elptestu un IgG antivielām serumā (Eiken vai Biohit testēšanas sistēmas) un pepsinogēni I un II serumā (Eiken, Japāna). Dalībniekiem, kuru pepsinogēnu vērtības atbilda seroloģiskai kuņģa atrofijai (iepriekš noteiktām robežvērtībām PgI/PgII ≤ 2 un PgI ≤ 30 ng/mL) tika veikta augšējā endoskopija un paņemtas biopsijas no kuņģa.

Socioekonomiskie, ar dzīvesveida paradumiem un slimību anamnēzi saistītie faktori sākotnēji analizēti kopā ar *H. pylori* infekcijas izplatību un pēc tam ar seroloģiski noteiktas kuņģa gļotādas atrofijas izplatību. Nākamā etapā pētīta atlasīto faktoru saistība ar histoloģiski pierādītiem kuņģa priekšvēža stāvokļu gadījumiem, kuri netika identificēti ar pepsinogēnu testa rezultātiem (kļūdaini negatīviem gadījumiem). Pepsinogēnu testa jutīgums (*sensitivity*) un specifiskums (*specificity*) kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā ar esošajām robežvērtībām aprēķināti ar ROC līknēm (*receiver operating characteristic curves*) un izvērtēti ar AUC (laukums zem ROC līknes) tiem faktoriem, kuri bija ticami saistīti ar kļūdaini negatīviem gadījumiem daudzfaktoru analizē. Grupās, kur bija ievērojami zemāks jutīgums vai specifiskums, tika aprēķinātas jaunas pepsinogēnu vērtības izmantojot Joudena indeksu lai noteiktu robežvērtību, kas sniedz pēc iespējas augstāku testa jutīgumu un specifiskumu kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā.

## Promocijas darba rezultātu aprobācija

### Zinātniskie projekti ar kuru izpildi darbs bijis saistīts

1. Eiropas Sociālā fonda projekts “LU doktorantūras kapacitātes stiprināšana jaunā doktorantūras modeļa ietvarā” Nr. 8.2.2.0/20/I/006. 07.03.2023.–06.03.2024.
2. TOGAS: Towards gastric cancer screening implementation in the European Union [Ceļā uz kuņģa vēža skrīninga ieviešanu Eiropas Savienībā]. 01.03.2023.–28.02.2026.

3. EUROHELICAN: Accelerating gastric cancer reduction in Europe through *Helicobacter pylori* eradication [Kuņģa vēža izplatības mazināšanas paātrināšana Eiropā ar *Helicobacter pylori* izskaušanu]. 01.11.2022.–30.04.2025.
4. Pētījumi onkoloģijas un onkoprevencijas jomā, tostarp biomarkieru un mikrobioma pētījumi (Biomarkieru un dabas vielu izpēte akūtu un hronisku slimību diagnostikai un personalizētai ārstēšanai). Latvijas Universitātes Klīniskās un profilaktiskās medicīnas institūts. 12.01.2022.–31.10.2022.
5. Pētījums GISTAR – daudzcentru randomizēts pētījums kuņģa vēža izraisītās mirstības samazināšanai, veicot *H. pylori* eradikāciju un nosakot pepsinogēnu līmeni. Latvijas Universitātes, Eiropas Sociālā fonda, Latvijas Zinātnes padomes un citu projektu ietvaros no 2016. gada.

## Publikācijas

### Publikāciju kopā iekļautie zinātniskie raksti

1. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Tzivian L, Young Park J, Leja M (2020). Sociodemographic, lifestyle and medical factors associated with *Helicobacter Pylori* infection. *J Gastrointestin Liver Dis* 29(3):319–327.
2. Polaka I, Razuka-Ebela D, Park JY, Leja M (2021). Taxonomy-based data representation for data mining: an example of the magnitude of risk associated with *H. pylori* infection. *BioData Min* 14(1):43.
3. Razuka-Ebela D, Zile I, Tzivian L, Ebela I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M (2020). Does family history of cancer influence undergoing screening and gastrointestinal investigations? *J Gastrointestin Liver Dis* 29(4):523–528.
4. Razuka-Ebela D, Polaka I, Daugule I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Rudzite D, Vangravs R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2022). Lifestyle and dietary factors associated with serologically detected gastric atrophy in a Caucasian population in the GISTAR study. *Eur J Cancer Prev* 31(5):442–450.
5. Razuka-Ebela D, Polaka I, Daugule I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Rudzite D, Vangravs R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2022). Factors associated with false negative results in serum pepsinogen testing for precancerous gastric lesions in a European population in the GISTAR study. *Diagnostics* 12(5):1166.
6. Leja M, Cine E, Polaka I, Daugule I, Murillo R, Parshutin S, Razuka-Ebela D, Rotberga L, Anarkulova L, Kriķe P, Santare D, Tzivian L, Herrero R, Park JY (2022). Factors influencing participation in preventive interventions for gastric cancer: the results from the GISTAR study. *Eur J Cancer Prev* 31(2):128–136.
7. Razuka-Ebela D, Giupponi B, Franceschi F (2018). *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Helicobacter* 23(Suppl 1):e12520.

8. Robles C, Rudzite D, Polaka I, Sjomina O, Tzivian L, Kikuste I, Tolmanis I, Vanags A, Isajevs S, Liepniece-Karele I, Razuka-Ebela D, Parshutin S, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M (2022). Assessment of serum pepsinogens with and without co-testing with gastrin-17 in gastric cancer risk assessment – results from the GISTAR pilot study. *Diagnostics (Basel)* 12(7):1746.

#### **Citi zinātniskie raksti**

9. Park JY, Polaka I, Parshutin S, Kikuste I, Isajevs S, Santare D, Rudzite D, Vanags A, Liepniece-Karele I, Kirsners A, Atstupens J, Daugule I, Ražuka-Ebela D, Downham L, Murillo R, Herrero R, Leja M (2019). Trial profile: pilot study of the multicentre randomised trial of *H. pylori* eradication and pepsinogen testing for prevention of gastric cancer mortality (the GISTAR pilot study). *Microb Health Dis* 1:e165.

#### **Zinātniskās konferences ar publicētām tēzēm**

Saraksts apskatāms 1. pielikumā (27 ziņojumi zinātniskās konferences, 25 no tiem ar publicētām tēzēm).

#### **Promocijas darba apjoms un struktūra**

Promocijas darbs sastāv no darba kopsavilkuma (vispārīgais darba raksturojums, piecas nodaļas, izmantotās literatūras saraksts un trīs pielikumi) un publikāciju kopas (astoņi raksti).

# 1. PĒTĪJUMA TEORĒTISKAIS PAMATOJUMS

## 1.1. *Helicobacter pylori* un populācijas faktori

*H. pylori* infekcija skar vidēji 50% pasaules populācijas, bet var ievērojami atšķirties starp populācijām un iedzīvotāju grupām. Tā, piemēram, Kanādā tās izplatība ir 37,9%, bet Portugālē 84,2% (Eusebi, 2014). Latvijā *H. pylori* izplatība 2012. gadā publicētā pētījumā bija 79%, bet 2020. gada publikācijā apreķinātā prevalence bija 60% (Leja *et al.*, 2012; Leja & Dumpis, 2020).

Uzskata, ka *H. pylori* infekcija tiek nodota tiešā veidā no cilvēka cilvēkam (orāli, ar kuņģa sekrētiem, fēcēm, ar krūts barošanu un jatroģēni) (Zaman *et al.*, 2019), endēmiskos reģionos iespējams arī ar inficētu ūdeni (Bellack *et al.*, 2006). Lielāka *H. pylori* izplatība parasti sastopama attīstības valstīs un ir saistīta ar zemāku socioekonomisko stāvokli un zemiem ienākumiem (Lim *et al.*, 2013; Eusebi *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014). Vairākos pētījumos gan pieaugušiem, gan bērniem *H. pylori* infekcija saistīta ar zemāku socioekonomisko statusu, ieskaitot pārāpdzīvotību un sliktāku sanitāciju, īpaši zemu un vidēju ienākumu valstīs (Chi *et al.*, 2009; Roma *et al.*, 2009). Dažos pētījumos *H. pylori* izplatība bija saistīta ar zemāku izglītības līmeni (EUROGAST 1993; Nourae *et al.*, 2009).

Savukārt sakarības starp *H. pylori* infekciju un citiem faktoriem mēdz ļoti atšķirties starp populācijām un dati ir dažkārt pretrunīgi. Augsts sāls patēriņš veicina kuņģa gļotādas kolonizāciju ar *H. pylori*, iekaisuma procesu, un paātrina karcinogēnēzi (Haley & Gaddy, 2016; Holubuik & Imiela, 2016). EUROGAST un INTERSALT pētījumu populācijās atrasta pozitīva korelācija starp nātrija ekskreciju urīnā un *H. pylori* infekciju (Beevers, 2004). Dažos šķērsgriezuma pētījumos atrasta sakarība starp nepietiekamu dārzeni un augļu uzņemšanu un *H. pylori* izplatību (Jarosz *et al.*, 2009; Mard *et al.*, 2014). Tomēr ir arī pētījumi, kuri šādu sakarību neapstiprina (Mhaskar *et al.*, 2013; Monno *et al.*, 2019). Uzskata, ka ar dāržiem un augļiem bagāts uzturs pasargā no kuņģa vēža un *H. pylori* nelabvēlīgās ietekmes. Efekts tiek pamatots ar karotenoīdu, folātu un C vitamīna klātbūtni (Bertuccio *et al.*, 2013; Haley & Gaddy, 2016).

Lai gan atsevišķos pētījumos atrastas dažāda rakstura sakarības starp *H. pylori*, smēķēšanu un alkohola patēriņu (Ogihara *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2010; Ozaydin *et al.*, 2013), tad vairumā tādas netika atrastas (Eusebi *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014). Meta-analizē lielāks alkohola patēriņš bija saistīts ar *H. pylori* izplatības mazināšanos (Liu *et al.*, 2016). Autori to skaidroja ar alkohola antibakteriālām un kuņģa skābes izdališanās veicinošām īpašībām. Tomēr ir arī vairāki pētījumi, kur alkohola patēriņš nebija saistīts ar *H. pylori* infekciju un viens pētījums, kur lielāks alkohola patēriņš bija saistīts ar lielāku *H. pylori* infekcijas izplatību (Zhang *et al.*, 2010).

Vairāki pētījumi norāda uz iespējamu *H. pylori* saistību ar vairākām slimībām ārpus kuņģa-zarnu trakta kā, piemēram, koronāro sirds slimību, insultiem, metabolo sindromu, cukura diabētu un autoimūnām vairogdziedzera slimībām, bet negatīvu saistību ar bronhiālu astmu (Goni & Franceschi, 2016; Chen *et al.*, 2017; Razuka-Ebela *et al.*, 2018). Īpaša uzmanība pievērsta *H. pylori* iespējamai saistībai ar koronāro slimību un miokarda infarkta risku, tomēr pārliecinošu datu par cēloņsakarībām nav (Yu *et al.* 2017; Rahmani *et al.* 2017).

Trūkst pētījumu, kas pētītu vienlaicīgi liela skaita faktoru saistību ar *H. pylori* izplatību Eiropas populācijā it īpaši centrālā un austrumu Eiropā, kur vietām saglabājas augsta *H. pylori* infekcijas izplatība neskatoties uz to, ka šīs valstis šobrīd skaitās ar augstiem ienākumiem (Starptautiskā vēža izpētes aģentūra, 2012; Roberts *et al.*, 2016). Viens šāds piemērs ir Latvija, kur ir augsta *H. pylori* prevalence un augsta ar to saistītās kuņģa atrofijas un kuņģa vēža izplatība (Leja *et al.*, 2017a).

## 1.2. *Helicobacter pylori*, kuņģa gļotādas atrofija un kuņģa vēzis

*H. pylori* infekcija ir saistīta ar kuņģa gļotādas atrofiju un peptisku čūlas slimību un tiek uzskatīta par galveno kuņģa vēža riska faktoru (Starptautiskā vēža izpētes aģentūra, 2012). Starptautiskā vēža izpētes aģentūra (2012) *H. pylori* klasificējusi kā pirmās grupas kancerogēnu.

*H. pylori* infekcijas galvenie iznākumi un priekšvēža stāvokļu attīstību ataino *Correa* kaskāde, kurā izdalāmas secīgas izmaiņas kuņģa gļotādā:

neizmainīta kuņģa gļotāda → ne-atrofisks gastrīts (vecais nosaukums: virspusējs gastrīts)

→ multifokāls atrofisks gastrīts bez intestinālas metaplāzijas

→ pilna (tievās zarnas) tipa intestināla metaplāzija

→ nepilna (resnās zarnas) tipa intestināla metaplāzija

→ zemas pakāpes displāzija (zemas pakāpes neinvazīva intraepiteliāla neoplāzija)

→ augstas pakāpes displāzija (augstas pakāpes neinvazīva intraepiteliāla neoplāzija)

→ invazīva adenokarcinoma (Correa & Piazuelo, 2012).

*H. pylori* ir biežākais gastrīta ierosinātājs. Sākotnēji gastrīts nav atrofisks, jo kuņģa gļotādai ir saglabāta dziedzeru struktūra. Tālāko ne-atrofiska gastrīta gaitu nosaka trīs apstākļi – *H. pylori* īpašības, ģenētiskā predispozīcija un ar vidi saistītie faktori. Ja tiek veikta *H. pylori* eradikācija, ne-atrofisks gastrīts var izzust. Ja *H. pylori* eradikācija netiek veikta, gastrīts var palikt ne-atrofisks, vai progresēt, novedot pie hroniska dziedzeru bojājuma un pat izzušanas. Infekcija ar *H. pylori* cag-pozitīvu vacA s1m1 celmu ir saistīta ar priekšvēža stāvokļiem un kuņģa vēzi, kamēr persistējošs ne-atrofisks gastrīts ar cag-negatīvu vacA s2m2 celmu nepalielina kuņģa vēža risku (Uemura *et al.*, 2001; Correa & Piazuelo, 2012).

Normālu dziedzeru izžušana kuņģa gļotādā ir pirmā priekšvēža kaskādes pazīme. Tas parasti notiek pēc jau ilgstoša iekaisuma un vairākos atsevišķos fokusos attīstās multifokāls atrofisks gastrīts. Progresējot atrofijai attīstās intestināla metaplāzija. Intestinālu metaplāziju pēc morfoloģijas iedala divos tipos: pilnais (tievās zarnas) tips un nepilnais (resnās zarnas) tips. Kuņģa gļotādu aizstāj metaplastiska tievai zarnai raksturīga gļotāda, kuras šūnas ekspresē gremošanas fermentus (pilna tipa). Kad metaplastiskās izmaiņas ir nosegušas lielākus gļotādas apvidus, vietām parādās resnās zarnas gļotādas fenotipam piemītošas īpatnības, un daļēji vai pilnībā izzūd gremošanas fermentu ekspresija (nepilna tipa). Biopsijās nereti atrodami gan pilnas, gan nepilnas metaplāzijas perēkļi. Papildus krāsojot ar HID-AB (*high iron diamine-alcian blue*) to iedala I pilna (*complete*), II nepilna (*incomplete*) un III nepilna (*incomplete*) tipa intestinālā metaplāzijā (Filipe *et al.*, 1994). Nepilnas metaplāzijas klātbūtne un tās lielāks īpatsvars salīdzinot ar pilnu metaplāziju norāda uz augstāku kuņģa vēža risku. Arī atrofijas un metaplāzijas izplatība kuņģī nosaka kuņģa vēža risku (Correa & Piazuelo, 2012; Pimentel-Nunes *et al.*, 2019).

Kuņģa gļotādas stāvoklis morfoloģiski tiek izvērtēts, izmantojot atjaunoto Sidnejas sistēmu (Dixon *et al.*, 1996). Balstoties uz morfoloģisko atradi iespējams iedalīt individuus kuņģa vēža attīstības riska kategorijās izmantojot OLGA (*operative link for gastritis assessment*) un OLGIM (*operative link for gastric intestinal metaplasia assessment*) sistēmas (Rugge *et al.*, 2013). Izmaiņu raksturs un lokalizācijas atbilstība kuņģa priekšvēža stāvokļiem aprakstīta MAPS II vadlīnijās (Pimentel-Nunes *et al.*, 2019).

### 1.3. Kuņģa gļotādas atrofijas riska faktori

Lai gan līdz pat 89% no ne-kardijas kuņģa vēža gadījumiem pasaulē tiek saistīti ar *H. pylori* un cilvēkiem ar infekciju ir līdz sešām reizēm lielāks kuņģa vēža attīstības risks, vairumam cilvēku ar šo infekciju kuņģa vēzis dzīves laikā neattīstīsies (Mbulaiteye *et al.*, 2009; Amieva and Peek, 2016). Šis apstāklis atstāj vietu virknei citu faktoru, kuriem varētu būt svarīga loma kuņģa priekšvēža stāvokļu attīstībā.

Ir zināms, ka kuņģa gļotādas atrofijas izplatība pieaug līdz ar vecumu un ir saistīta ar *H. pylori* infekciju (Weck & Brenner, 2008). Par atrofiska gastrīta riska faktoriem ir publicēti ievērojami mazāk pētījumu, nekā par kuņģa vēža riska faktoriem. Atšķiras arī metode, kā noteikta kuņģa gļotādas atrofija – daļā pētījumu atrofisks gastrīts pierādīts histoloģiski, bet daļā seroloģiski. Vairums jaunāko un lielāko pētījumu, kas publicēti par kuņģa atrofiju un tās faktoriem, ir par Āzijas populācijām. Paredzams, ka tur riska faktori varētu atšķirties no Rietumu valstu populācijām saistībā ar populāciju ģenētiskām īpatnībām, *H. pylori* izplatību, kā arī vides un uzvedības faktoriem (Wirth & Yang, 2016).

Uzturs ar daudz sāls, nitrātiem un sāli saturošiem izstrādājumiem, bet ar maz dārzeniņiem un augļiem pētījumos sasaistīts ar kuņģa atrofiju (Wirth & Yang, 2016; Haley & Gaddy, 2016; Song *et al.*, 2017a). Savukārt lielāks dārzeņu un augļu patēriņš vairākās populācijas saistīts ar zemāku hroniska atrofiska gastrīta izplatību, kas tiek skaidrots ar C vitamīna, karotenoīdu un folātu aizsargājošo ietekmi (Bertuccio *et al.*, 2013; Haley & Gaddy, 2016). Lielāks šķiedrvielu daudzums uzturā saistīts ar zemāku kuņģa vēža risku (Zhang *et al.*, 2013). Savukārt stērķeli saturoši dārzeni saistīti ar augstāku hroniska atrofiska gastrīta risku, kas varētu būt saistīts ar atšķirībām šo dārzeņu pagatavošanā (Kato *et al.*, 2004). Arī biežāka sarkanas, kūpinātas un salītas gaļas, kā arī gaļas izstrādājumu lietošana sasaistīta ar palielinātu kuņģa vēža risku (Kim *et al.*, 2019).

Divos pētījumos piena lietošana uzturā bija saistīta ar lielāku hroniska atrofiska gastrīta risku un intestinālu metaplāziju (Fontham *et al.*, 1986; Kato *et al.*, 2004). Meta-analizē biežāka piena produktu lietošana, neskaitot pienu, rietumu valstīs bija saistīta ar mazāku kuņģa vēža risku, bet sakarība ar piena lietošanu netika atrasta (Guo *et al.*, 2015).

Vairākos pētījumos smēķēšana izvirzīta kā riska faktors kuņģa vēža attīstībā (Gonzalez *et al.*, 2003). Smēķētāju vidū kuņģa vēža risks ir lielāks vīriešiem, nekā sievietēm (Ladeiras-Lopes *et al.*, 2008). Attiecībā uz atrofisku gastrītu un smēķēšanu, publicētie dati atšķiras. Divos prospektīvos pētījumos netika atrasta sakarība starp atrofisku gastrītu un smēķēšanu (Eurohepygast, 2002; Adamu *et al.*, 2011), bet atsevišķos šķērsgrīzuma pētījumos atrasta negatīva sakarība starp smēķēšanu un Pg I/II attiecību (Mansour-Ghanaei *et al.*, 2019). Pētījumā Āzijā novērota sakarība starp smēķēšanu un smagākām atrofijas pakāpēm (Nakamura *et al.*, 2002), kamēr Skandināvijā smēķēšana *H. pylori* pozitīviem dalībniekiem samazināja iekaisumu un atrofiju kuņģa korpusā (Koivisto *et al.*, 2008).

#### **1.4. Kuņģa gļotādas morfoloģiskā stāvokļa izvērtēšana nosakot pepsinogēnus serumā**

Pepsinogēns ir enzīma pepsīna neaktīvā forma. Kuņģa skābajā vidē pepsinogēns pārtop pepsīnā, kad no tā gala tiek atšķelts aminoskābju fragments. Pepsīns ir proteāze, kura nodrošina olbaltumvielu šķeļšanu gremošanas laikā. Pastāv septiņi pepsinogēni, kurus iedala divās grupās – pepsinogēns I un pepsinogēns II (Pg I un Pg II). Kuņģa korpusā un fundusā īsteno dziedzeru galvenās šūnas izdala Pg I un mazāk Pg II. Toties Pg II izdala arī kuņģa antrālās daļas piloriskie dziedzeri, gļotāda kardiijas daļā ap barības vada pāreju kuņģī, kā arī Brunera dziedzeru šūnas divpadsmitpirkstu zarnā (Hirschowitz, 1984; Westerveld *et al.*, 1987). Nelielā daudzumā pepsinogēni nonāk arī asinīs un ir nosakāmi serumā.

Kuņģa gļotādas atrofijas pakāpi labi atspoguļo Pg I. Tā limenis mazinās līdz ar īsteno dziedzeru destrūkciju. Pepsinogēna II izdalīšanos veicina *H. pylori*



radīts iekaisums un gan hiperplastiska, gan neoplastiska šūnu proliferācija (Correa & Piazzuelo, 2012). Pazemināti Pg I un Pg I/II attiecība vērojami pie atrofiska gastrīta, perniciozas anēmijas, intestinālas metaplāzijas, displāzijas un pie kuņģa vēža (Westerveld *et al.*, 1987).

Pepsinogēnu noteikšana serumā ir labākā šobrīd pieejamā neinvazīvā metode kuņģa gļotādas morfoloģiskā un funkcionālā stāvokļa izzināšanai (Malfethertheiner *et al.*, 2017, Malfethertheiner *et al.*, 2022). Zema Pg I un Pg I/II attiecība norāda uz iespējamu kuņģa atrofiju un var tikt izmantota lai identificētu cilvēkus, kuriem ir paaugstināts kuņģa vēža attīstības risks, un kuriem būtu lietderīgi veikt endoskopisku izmeklēšanu (Miki 2006; Yamaguchi *et al.*, 2016).

## 1.5. Pepsinogēnu vērtību ietekmējošie faktori

Seruma pepsinogēnu testa jutīgumā un specifiskumā kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā dažādos pētījumos bijuši pat ļoti atšķirīgi rezultāti. Divas meta-analīzes norāda, ka pepsinogēniem piemīt mērena diagnostiska nozīme kuņģa vēža un priekšvēža stāvokļu atklāšanā ar izteiktu heterogenitāti starp pētījumiem, ko varētu skaidrot ar atšķirībām metodoloģijā un ar pētāmo populāciju īpatnībām (Huang *et al.*, 2015; Bang *et al.*, 2019).

Pepsinogēnu līmeņi var palielināties līdz ar smagāku iekaisumu, jeb gastrītu (Tong *et al.*, 2017). Ilgstošas smēķēšanas rezultātā pieaug kuņģa sekrēcija (Parente *et al.*, 1985). Smēķēšana var izraisīt pastiprinātu pepsinogēnu izdalīšanos, jo īpaši Pg I (Sakamoto, 2010). Tatemichi *et al.* (2001) publicētā pētījumā *H. pylori* seronegatīviem smēķētājiem vidējais Pg I līmenis bija augstāks, nekā nesmēķētājiem. Netika konstatētas ar *H. pylori* IgG antivielu titru saistītas atšķirības Pg II un Pg I/II vērtībās. Pētījumā Ķīnā Pg I vērtības bija ievērojami augstākas un Pg II vērtības pat dubultojās asimptomātiskiem pētījuma dalībniekiem ar *H. pylori* infekciju salīdzinot ar dalībniekiem bez infekcijas (Yu *et al.*, 2021). Tā rezultātā *H. pylori* pozitīviem dalībniekiem bija ievērojami zemāka Pg I/II attiecība nekā *H. pylori* negatīviem dalībniekiem.

Publicēti arī dati par augstākām Pg I un Pg II vērtībām vīriešiem nekā sievietēm (Pals *et al.*, 1985; Hokkanen *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2016; Yu *et al.*, 2021). Pg I/II attiecība bija lielāka vīriešiem nekā sievietēm vairākos Ķīnā veiktos pētījumos (Sun *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2016), tomēr vienā tā bija lielāka sievietēm (Yu *et al.*, 2021).

Pētījumos novērots, ka Pg I un Pg II līmeņi pakāpeniski palielinās līdz ar vecumu (Yu *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2016), bet Pg I/II attiecība strauji samazinās ar vecumu (Sun *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2021). Sun *et al.* (2007) veiktajā pētījumā Pg I/II mazināšanās saistīta ar Pg I līmeņa mazināšanos dalībniekiem, kas vecāki par 61 gadu. Eiropas populācijās veikto pētījumu dati bija atšķirīgāki – Nīderlandē Pg I un Pg II vērtības arī pieauga ar lielāku vecumu (Veenendaal

*et al.*, 1992), kamēr citā populācijā Pg I un Pg I/II attiecība samazinājās ar lielāku vecumu *H. pylori* pozitīviem dalībniekiem (Kuipers *et al.*, 1996).

Yu *et al.* (2021) veiktajā pētījumā Ķīnā arī novērots, ka dalībniekiem ar adipozitāti (ķermeņa masas indekss virs 28kg/m<sup>2</sup>) Pg I un Pg II bija zemāki, bet Pg I/II vērtība bija augstāka, salīdzinot ar dalībniekiem ar mazāku ķermeņa masas indeksu (ĶMI). Kutsuma *et al.* (2014) Japānā veiktā pētījumā gan samazināts, gan paaugstināts ĶMI bija saistīts ar zemāku Pg I un Pg I/II attiecību. Pētījumā Ķīnā novērots, ka pepsinogēnu vidējās vērtības atšķirās dažādos Ķīnas reģionos un pētījumu autori to skaidroja ar atšķirībām tautībā un uztura paradumos (Tong *et al.*, 2021).

## 2. MATERIĀLI UN METODES

### 2.1. Pētāmā populācija

Darbs izstrādāts “GISTAR – daudzcentru randomizēts pētījums kuņģa vēža izraisītās mirstības samazināšanai, veicot *H. pylori* eradikāciju un nosakot pepsinogēnu līmeni” ietvaros. Sākot ar 2013. gadu indivīdi vecumā no 40 līdz 64 gadiem atlasīti pēc nejaušības principa vairākos secīgos pētījuma centros Latvijā (Cēsis, Alūksnē, Ludzā, Saldū, Tukumā, Dobelē, Rēzeknē, Madonā un Jēkabpilī). Kopš 2016. gada darba autore ir iesaistīta dažādu GISTAR pētījuma uzdevumu izpildē, ieskaitot darbu pētījuma centros, pētījuma anketas izstrādē, iegūto datu analizē un interpretācijā. Šī darba gaitā līdz 2022. gada pavasarim dažādos etapos pakāpeniski kopumā iekļauti 3000 dalībnieki līdz ar GISTAR iekļauto dalībnieku skaita pieaugumu.

Dalībnieki tika uzaicināti brīvprātīgi piedalīties pētījumā ar ģimenes ārstiem pieejamā reģistra palīdzību pētījuma centru apvidos ar telefona zvana vai pasta starpniecību. Dalībniekus pirms pētījuma uzsākšanas izvērtēja medicīnas personāls. Dalībnieki netika iekļauti pētījumā, ja tiem anamnēzē bija kuņģa vēzis, kuņģa rezekcija sakarā ar labdabīgu slimību, tika veikta *H. pylori* eradikācija pēdējā gada laikā, psiholoģiski vai kognitīvi traucējumi, kas var iespaidot sniegto datu precizitāti un līdzestību pētījuma laikā, vai kuriem kuņģa-zarnu trakta vai citu slimību dēļ nepieciešama tūlītēja ārstēšana un izmeklēšana.

Visi dalībnieki iekļaušanas brīdī GISTAR pētījumā parakstīja informētu piekrišanu un GISTAR pētījuma protokolu ir apstiprinājusi Latvijas Centrālās medicīnas ētikas komiteja (01–29.1/11) un Starptautiskā vēža izpētes aģentūras ētikas komiteja (IEC 12–36). Pētījuma protokols ir reģistrēts [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) datubāzē (NCT02047994). Šī darba ietvaros veiktie uzdevumi atbilst apstiprinātajam GISTAR pamatprotokolam un informētai piekrišanai, ko parakstīja visi dalībnieki.

### 2.2. Dalībnieku anketēšana

Visus dalībniekus intervēja pētījuma centra darbinieks un aizpildīja detalizētu anketu. Anketā bija ietverti dati par sociodemogrāfiskiem faktoriem, dzīvesveidu (fiziskā aktivitāte, uzturs, smēķēšana, alkohola lietošana), anamnēzi (lietotie medikamenti, slimību anamnēze, *H. pylori* eradikācija vairāk nekā pirms viena gada), un vēzi ģimenes anamnēzē. Tika izmērīts pacientu augums un svars, izrēķināts ķermeņa masas indekss ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Detalizēts analizē iekļauto faktoru (mainīgo) uzskaitījums un to kodēšana atrodama 2. pielikumā.

Šī darba gaitā vairārkārt veikts GISTAR anketas kvalitatīvs pārskats un tā tikusi koriģēta un papildināta lai uzlabotu iegūto datu precizitāti, to izmantošanu dažāda veida analizē, kā arī iespēju datus pielīdzināt citu valstu pētījumu datiem.

### 2.3. Instrumentālie dati

Dalībnieku dalījums kontroles un intervences grupās un attiecīgi veiktie izmeklējumi GISTAR gaitā nosaka dalībnieku skaitu, kas iekļauti katrā šī darba posmā. Lai radītu labāku izpratni, nepieciešams iepazīstināt ar GISTAR pētījuma dizainu. Pilns GISTAR pamatpētījuma apraksts atrodams citviet (Leja *et al.*, 2017a). GISTAR pētījums dalās pilota pētījumā un pamatpētījumā (attiecīgi no 2013. līdz 2015. gadam un no 2015. līdz 2013. gadam). Šajā darbā iekļauti dalībnieki gan no pilota, gan no pamatpētījuma.

GISTAR protokola ietvaros dalībnieki tika randomizēti iedalīti divās grupās – kontroles un intervences grupās. Intervences grupas dalībniekiem tika noteiktas *H. pylori* IgG grupas antivielas ar ELISA metodi (*Enzyme linked immunosorbent assay*), izmantojot Somijas Biohit sistēmu pilotpētījumam un Japānas Eiken sistēmu pamatpētījumam. *H. pylori* tika noteikts vairumam dalībnieku arī ar <sup>13</sup>C-urea elptestu.

Intervences grupai tika noteikti pepsinogēni I un II ar lateksa-aglutinācijas testa sistēmu (Eiken Chemical, Japāna). Atbilstoši iepriekš noteiktajām robežvērtībām par seroloģisku kuņģa atrofiju un līdz ar to paaugstinātu kuņģa priekšvēža stāvokļu risku, dalībnieki ar PgI/Pg II ≤2 un PgI ≤ 30 ng/mL tika nosūtīti uz augšējo endoskopiju un no kuņģa tika paņemtas biopsijas (Leja *et al.*, 2017b). Pilota pētījuma ietvaros endoskopijas tika veiktas arī papildus izveidotai kontroles grupai – dalībniekiem, kuriem nebija izmainīti pepsinogēni. Šī grupa skaitliski sastādīja uz pusi mazāk dalībnieku, nekā grupa ar izmainītajiem pepsinogēniem.

Kuņģa biopsiju paraugus vērtēja divi neatkarīgi patologi atbilstoši atjaunotajai Sidnejas sistēmai un OLGA un OLGIM stadijām (Dixon *et al.*, 1996; Rugge *et al.*, 2013). Biopsijās, kurās bija intestināla metaplāzija tika papildus krāsotas ar HID-AB (*high iron diamine-alcian blue*) krāsojumu un iedalītas pēc tipiem – I tipa pilna (*complete*), II tipa nepilna (*incomplete*) un III tipa nepilna (*incomplete*) intestināla metaplāzija (Filipe *et al.*, 1994).

Šī darba etapos izmantoti vairāki apzīmējumi pētāmām grupām, kas definēti 1. tabulā.

## 1. tabula. Darbā izmantotie pētāmo grupu apzīmējumi un definīcijas

Apzīmējums	Definīcija
<i>H. pylori</i> infekcija	Atkarībā no darba etapa tā noteikta ar <sup>13</sup> C-urea elptestu, <i>H. pylori</i> IgG antivielām serumā vai kuņģa biopsiju ar histoloģiju (pēc <i>Giemsa</i> krāsojuma)
Seroloģiska kuņģa atrofija	Seroloģiska kuņģa gļotādas atrofija atbilstoši iepriekš noteiktajām robežvērtībām, kad PgI/PgII ≤ 2 un PgI ≤ 30 ng/mL serumā
Kuņģa priekšvēža stāvoklis	Ar paaugstinātu kuņģa vēža risku saistīta intestināla metaplāzija, atrofija vai displāzija atbilstoši MAPS II vadlīnijās noteiktajam (Pimentel-Nunes <i>et al.</i> , 2019)
Pareizi pozitīvie gadījumi	Histoloģiskā atrade atbilst kuņģa priekšvēža stāvoklim un ir seroloģiska kuņģa atrofija (pazemināti Pg rādītāji serumā, PgI/PgII ≤ 2 un PgI ≤ 30 ng/mL).
Kļūdaini negatīvi gadījumi	Histoloģiskā atrade atbilst kuņģa priekšvēža stāvoklim, bet nav seroloģiskas kuņģa atrofijas (Pg rādītāji serumā nav pazemināti vai nav izmainīti)

## 2.4. Statistiskā analīze

Datu apstrādē izmantotas aprakstošās un analītiskās datu apstrādes metodes, veikta vienpakāpju, daudzfaktoru un daudzpakāpju analīze. Lai izvērtētu atšķirības starp pētāmām grupām, aprakstošai statistikai izmantoti *Pearson Chi-square* un *Mann Whitney U* testi atkarībā no datu izkliedes. Mainīgajiem, kuri mērāmi skalā, parādītas vidējās aritmētiskās vērtības ar standardnovirzi (SN) ja izkliede ir normāla, vai mediānas ar starpkvartīļu intervāliem (SKI), ja izkliede neatbilst normālai. Balstoties uz literatūras apskatu un darba hipotēzēm vienpakāpju analīzē bija nepieciešams iekļaut lielu skaitu faktoru. Pakāpeniski pieauga iekļauto dalībnieku skaits, tāpēc katrā etapā iekļauto dalībnieku skaits nav identisks.

Atbilstoši darba uzdevumiem datu analīze iedalāma:

1. Populācijas faktoru izpēte saistībā ar *H. pylori* izplatību Latvijā.
2. Populācijas faktoru izpēte saistībā ar seroloģiski noteiktas kuņģa gļotādas atrofijas izplatību Latvijā, ņemot vērā *H. pylori* infekciju.
3. Populācijas faktoru izpēte saistībā ar histoloģiski pierādītiem kļūdaini negatīviem pepsinogēnu testa gadījumiem nosakot kuņģa priekšvēža stāvokļus.
4. Atlasīto faktoru ietekmes uz atsevišķām Pg vērtībām (Pg I, Pg II, Pg I/II attiecība) izpēte, lai rastu detalizētāku izpratni par atrasto sakarību raksturu un konstatētu dažādu faktoru iespējamu mijiedarbību.
5. Atlasīto faktoru ietekmes izpēte uz pepsinogēnu testa jutīgumu un specifiskumu kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā.
6. Balstoties uz atlasītajiem faktoriem, jaunu robežvērtību aprēķini pepsinogēnu testa precizitātes uzlabošanai.

Pētāmiem iznākumiem (*H. pylori* infekcija, seroloģiska kuņģa atrofija, kļūdaini negatīvi gadījumi) tika izveidoti daudzfaktoru logaritmiskas regresijas modeļi. Mainīgie ar  $p < 0,10$  sākotnējā divfaktoru analizē tika iekļauti regresijās (daudzfaktoru analizē). Katram faktoram regresijā izrēķinātas izredžu attiecības (IA, *odds ratio*) un 95% ticamības intervāli (TI). Daudzfaktoru analizē mainīgie ar  $p < 0,05$  tika uzskatīti par statistiski ticamiem.

Daudzfaktoru analizē *H. pylori* infekcijai papildus iekļauti vecums, dzimums un ienākumi, kas citos pētījumos bija saistīti ar *H. pylori* izplatību (Eusebi *et al.*, 2014). Galvenajā modelī izmantoti *H. pylori*  $^{13}\text{C}$ -urea elptesta rezultāti. Atsevišķs modelis izveidots izmantojot elptesta vietā *H. pylori* seroloģijas rezultātus pieļaujot iespēju, ka *H. pylori* noteikšanas veids varētu ietekmēt atrastās sakarības. Detalizēts statistikas metožu apraksts atrodams pievienotajā publicētajā rakstā (Razuka-Ebela *et al.*, 2020).

Pēc iepriekš aprakstītajiem principiem izveidots logaritmiskas regresijas modelis arī seroloģiskai kuņģa atrofijai, papildus iekļaujot dzimumu, smēķēšanu un alkohola patēriņu, jo tie citos pētījumos bija saistīti ar samazinātu pepsinogēnu līmeni vai atrofiju (Liu *et al.*, 2016; Tatemichi *et al.*, 2001; Kikuchi *et al.*, 2002; Song *et al.*, 2017b). Modelī iekļauti arī nodarbinātības statuss un izglītības līmenis kā sociodemogrāfiski faktori, jo socioekonomiskais līmenis vairākos pētījumos bija saistīts ar *H. pylori* izplatību un var ietekmēt dzīvesveidu un paradumus (Eusebi *et al.*, 2014; Wang & Geng, 2019).

Vairākkārt veikta padziļināta papildus analīze ar mērķi izslēgt jaucējfaktorus un pārliecināties par atrasto sakarību ciešumu, kā, piemēram, sadalot dalībniekus pēc kuņģa vēža riska izvērtēšanas ABC klasifikācijas, tādējādi modelī izdalot visas iespējamās kuņģa atrofijas un *H. pylori* kombinācijas kā atsevišķus iznākumus (Yamaguchi *et al.*, 2016). Detalizēts papildus veiktās analīzes apraksts atrodams pievienotajā publicētā rakstā (Razuka-Ebela *et al.*, 2022a).

Iepriekšējos darba etapos identificētie faktori tika salīdzināti starp kļūdaini negatīviem pepsinogēnu testa gadījumiem (kuņģa priekšvēža stāvoklis pierādīts histoloģiski, bet pepsinogēnu vērtības neizmainītas) un pareizi pozitīviem gadījumiem (priekšvēža stāvoklis pierādīts histoloģiski un pepsinogēnu vērtības pazeminātas) izmantojot iepriekš minētās statistikas metodes. Kļūdaini negatīviem gadījumiem izveidots logaritmiskas regresijas modelis iekļaujot faktorus, kas bija ticami saistīti vienfaktoru un divfaktoru analizē, iekļaujot arī histoloģiski pierādītu *H. pylori* infekciju. Modelī papildus iekļauti vecums un ienākumu līmenis. Detalizēts statistikas metožu apraksts un pamatojums atrodams pievienotajā publicētā rakstā (Razuka-Ebela *et al.*, 2022b).

Papildus veikta arī mediāno Pg I, Pg II un Pg I/II vērtību izpēte, salīdzinot tās pēc *H. pylori* infekcijas klātbūtnes, smēķēšanas paradumiem, dzimuma, vecuma un vairākiem citiem faktoriem ar mērķi gūt labāku izpratni par daudzfaktoru analizē konstatētajām sakarībām. Šāda veida izpēte arī veikta, sadalot dalībniekus pēc tā, vai histoloģiski pierādīts kuņģa priekšvēža stāvoklis.

Faktori, kas bija cieši saistīti ar kļūdaini negatīviem pepsinogēnu testa gadījumiem kļuva par pamatu tālākai izpētei. Sadalot dalībniekus grupās atbilstoši smēķēšanas paradumiem un *H. pylori* klātbūtnei izmantojot iepriekš noteiktās pepsinogēnu robežvērtības ( $\text{Pgl/PgII} \leq 2$  un  $\text{Pgl} \leq 30 \text{ ng/mL}$ ), aprēķinātas ROC liknes Pg I/II attiecībai un Pg I vērtībām, izmantojot šo faktoru regresijas liknes rezultātus un novērtējot laukumu zem ROC liknes (AUC). Papildus aprēķini veikti arī pēc dzimuma un vecuma.

Grupās, kur jutīgums vai specifiskums bija zem 65%, tika aprēķinātas jaunas pepsinogēnu robežvērtības izmantojot Joudena indeksu (*Youden's J*) lai noteiktu robežvērtību, kas sniedz pēc iespējas augstāku jutību un specifiskumu priekšvēža stāvokļu identificēšanā. Analīze veikta SPSS 21. versijā (IBM Corp., 2012) un *Microsoft Excel* (2010, 2021).

### 3. REZULTĀTI

Detalizēts aprēķinu rezultātu apkopojums atrodams tabulās gan darba pielikumā, gan arī pievienotajās publikācijās.

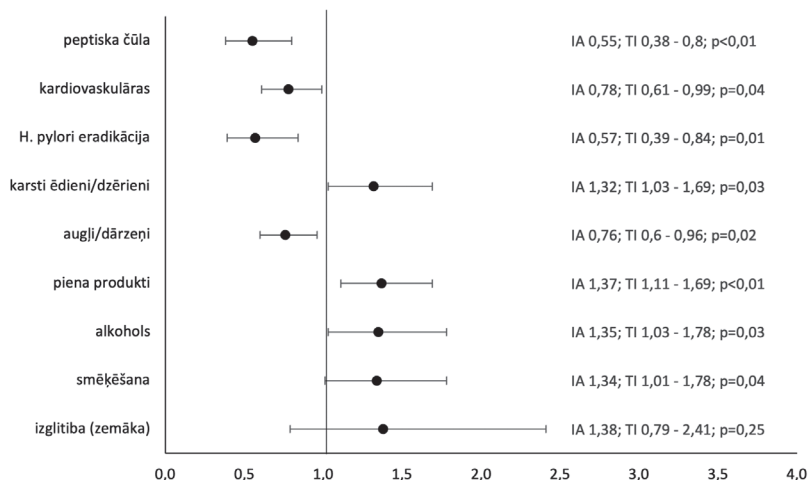
#### 3.1. Ar *H. pylori* izplatību saistītie populācijas faktori

Šajā darba posmā analizē iekļauti 1885 dalībnieki, kuriem noteiktas *H. pylori* IgG antivielas ar ELISA metodi (Eiken, Japāna) laika periodā no 2016. gada martam līdz 2018. gada decembrim. Dalībnieku vidējais vecums bija 52 gadi (SKI 12 gadi) un 62,3% bija sievietes. No dalībniekiem 1044 (55,4%) bija pozitīva *H. pylori* seroloģija. Vislielākais seropozitīvo dalībnieku īpatsvars bija zemākajā izglītības grupā (65% pozitīvi iepretim 35% negatīvi), bet vismazākais – augstākās izglītības grupā (51% iepretim 49%) (3. pielikums, 1. tabula).

*H. pylori* izplatība bija lielāka smēķētāju un bijušo smēķētāju, kā arī to dalībnieku vidū, kas epizodiski pārmērīgi lietoja alkoholu (*binge-like drinkers*). *H. pylori* seroloģija bija biežāk pozitīva dalībniekiem, kuri patērēja vismaz 200g piena produktu dienā, lietoja ļoti karstus ēdienus vai dzērienus, pievienoja ēdienam papildus sāli un biežāk lietoja marinētus produktus (3. pielikums, 2. tabula). Iekļaujot analizē arī slimību anamnēzi dalībnieki, kuriem anamnēzē bijusi *H. pylori* eradikācija, peptiska čūlas slimība, sirds un asinsvadu, kā arī vairogdziedzera slimības, biežāk bija *H. pylori* seropozitīvi (Razuka-Ebela *et al.*, 2020, 3. tabula).

Faktori, kas vienpakāpju analizē bija ticami saistīti ar *H. pylori* seropozitīvātāti tika iekļauti daudzfaktoru logaritmiskā regresijas modeļi, pielāgojot to vecumam, dzimumam un ienākumiem balstoties uz iepriekš veikto literatūras apskatu. Daudzfaktoru analizē bija ticamas sakarības starp *H. pylori* seropozitīvātāti un smēķēšanu, epizodisku pārmērīgu alkohola lietošanu, vismaz 200 g piena produktu patēriņu dienā, kā arī ļoti karstu ēdienu vai dzērienu lietošanu. *H. pylori* seropozitīvātate bija negatīvi saistīta ar vismaz 400g augļu un dārzeņu patēriņu dienā, *H. pylori* eradikāciju senākā anamnēzē, peptisku čūlas slimību un sirds un asinsvadu slimībām anamnēzē (1. attēls; 3. pielikums, 3. tabula).





### I. attēls. Daudzfaktoru analīze ar *H. pylori* seropozitivitāti saistītiem faktoriem.

IA – izredžu attiecība, TI – 95% ticamības intervāls, p vērtība. Modelī iekļauti faktori: izglītības līmenis, smēķēšana, epizodiska pārmērīga alkohola lietošana vismaz reizi mēnesī,  $\geq 200$  g piena produktu dienā,  $\geq 400$ g augļu un dārzeņu dienā, ļoti karstu ēdienu vai dzērienu, marinētu produktu un gaļas izstrādājumu lietošana, papildus sāls pievienošana ēdienam, *H. pylori* eradikācija anamnēzē (senāk, kā pirms gada), peptiskas čūlas, kardiovaskulāru un vairogdziedzera slimību anamnēze. Modelis pielāgots vecumam, dzimumam un ienākumu līmenim.

Papildus tika veikta padziļināta izpēte virknei faktoru lai atrastu iespējamus jaucējfaktorus un pārlicinātos par atrasto sakarību ciešumu. Starp *H. pylori* seropozitivitāti un izglītību vienpakāpju analizē iezīmējas ticama sakarība, kas izzuda daudzfaktoru analizē. Tāpēc tika veikta papildus analīze iepretim citiem faktoriem, kas varētu ietekmēt izglītības saistību ar *H. pylori* (Razuka-Ebela *et al.*, 2020, tabula S1). Pēc padziļinātas papildus izpētes saglabājās cieša sakarība starp piena produktu patēriņu un *H. pylori* izplatību, netika atrasti jaucējfaktori (Razuka-Ebela *et al.*, 2020, tabula S2).

Ņemot vērā neparedzēto negatīvo sakarību starp sirds un asinsvadu slimību anamnēzi un *H. pylori* seropozitivitāti, tika veikta arī papildus izpēte, ņemot vērā, ka varētu pārsegties sirds un asinsvadu slimību un *H. pylori* izplatības riska faktori (Razuka-Ebela *et al.*, 2020, tabula S4). Izveidojot regresijas modeli sirds un asinsvadu slimībām un *H. pylori* seropozitivitātei, sakarība starp abiem faktoriem tikai pastiprinājās iekļaujot virkni citu faktoru un pārlicinoši, ticami jaucējfaktori neiezīmējās (3. pielikums, 4. tabula). Papildus izpēte tika veikta ņemot vērā arī iespējami nepareizi ziņotu informāciju par *H. pylori* eradikāciju anamnēzi (Razuka-Ebela *et al.*, 2020, tabula S3).

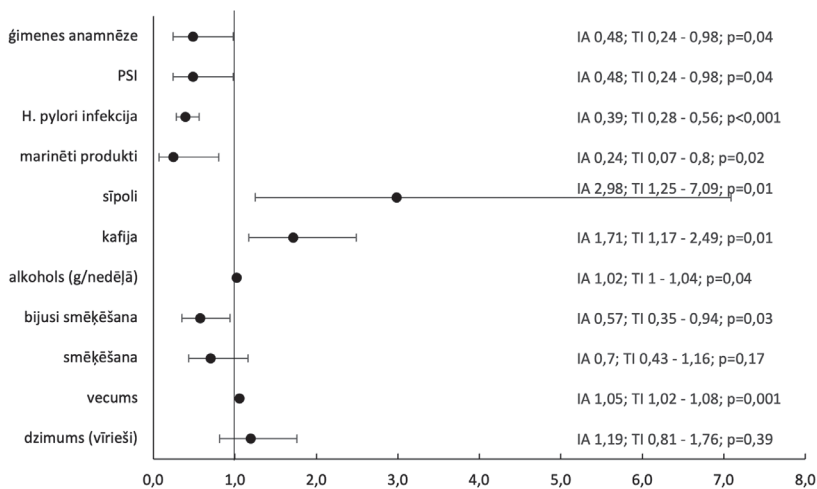
### 3.2. Seroloģiski noteikta kuņģa atrofija un populācijas faktori

Darba otrā etapā pētot sakarības starp populācijas faktoriem un seroloģiski noteiktu kuņģa atrofiju iekļauti 3001 dalībnieki. Dalībnieku vidējais vecums bija  $52,1 \pm \text{SN } 6,8$  gadi, 36,9% bija vīrieši. Seroloģiski noteikta kuņģa atrofija bija 231 (7,7%). No šiem dalībniekiem 2288 veikts  $^{13}\text{C}$ -urea elptestes *H. pylori* noteikšanai un 1167 (51,0%) tas bija pozitīvs. No tiem 2089 tika arī noteiktas *H. pylori* IgG antivielas serumā un 1182 (56,6%) tās bija pozitīvas. Pētāmās populācijas detalizēts raksturojums un galvenie vienpakāpju analizē iegūtie rezultāti atrodami 3. pielikuma 5. un 6. tabulā.

Balstoties uz statistiski ticamām sakarībām, kas atrastas starp seroloģisku atrofiju un populācijas faktoriem vienpakāpju analizē, daudzfaktoru analizē iekļauti sekojoši faktori: vecums, smēķēšana, marinētu produktu, sīpolu un kafijas lietošana, kuņģa vēzis ģimenes anamnēzē, protonu sūkņa inhibitoru lietošana un *H. pylori* infekcija, papildus iekļaujot dzimumu, nodarbinātības statusu, izglītības līmeni un alkohola patēriņu. Daudzfaktoru analīze tika veikta atsevišķi abām *H. pylori* noteikšanas metodēm (elptests un seroloģija) (3. pielikums 7. un 8. tabula).

Daudzfaktoru analizē, izmantojot elptestu kā *H. pylori* noteikšanas metodi, statistiski ticamas sakarības bija vērojamas starp seroloģiski noteiktu kuņģa gļotādas atrofiju un vecumu, alkohola patēriņu, kafijas un sīpolu lietošanu (2. attēls). Ticamas negatīvas asociācijas bija starp seroloģiski noteiktu atrofiju un pozitīvu *H. pylori* elptestu, marinētu produktu un protona sūkņa inhibitoru lietošanu, bijušiem smēķētājiem, kā arī dalībniekiem ar kuņģa vēzi ģimenes anamnēzē. Sakarības starp seroloģisku atrofiju, *H. pylori* un citiem faktoriem bija statistiski ticamas arī pēc dalībnieku, kuriem jebkad bijusi *H. pylori* eradikācija, izslēgšanas no analīzes.

Tika veikta padziļināta papildus analīze sadalot dalībniekus pēc ABCD klasifikācijas (3. pielikums, 9. un 10. tabula).



**2. attēls.** Daudzfaktoru analīze ar seroloģiski noteiktu kuņģa atrofiju saistītiem faktoriem, pielāgojot modeli dzimumam, smēķēšanai un alkohola patēriņam, *H. pylori* nosakot ar elptestu.

IA – izredžu attiecība, TI – 95% ticamības intervāls, PSI – protonu sūkņa inhibitoru lietošana.

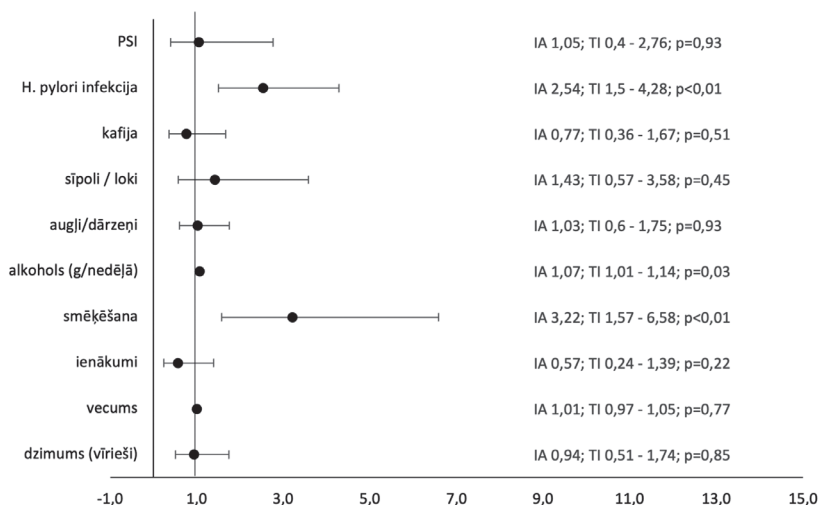
### 3.3. Kļūdaini negatīvi testa gadījumi un populācijas faktori

No 1210 biopsiju rezultātiem 367 (30,3%) dalībnieku histoloģijas slēdzieni atbilda kuņģa priekšvēža stāvokļiem. No tiem 160 (43,6%) nebija pazemināts pepsinogēnu līmenis, tie netika identificēti ar pepsinogēna testu un līdz ar to bija kļūdaini negatīvi.

Salīdzinot iepriekšējos darba etapos caurskatītos faktoros starp kļūdaini negatīvo un pareizi pozitīvo grupām, iezīmējas vairākas ar šiem faktoriem saistītas atšķirības, kas vienpakāpju analīzes līmenī uzskaitītas 3. pielikuma 11. tabulā.

Daudzfaktoru analīzē iekļauti vecums, histoloģiski apstiprināta *H. pylori* infekcija, ķermeņa masas indekss un sekojoši faktori, kas bija ticami saistīti ar kļūdaini negatīviem gadījumiem vienpakāpju analīzē: dzimums, ienākumi, smēķēšana, alkohola, sīpolu un kafijas lietošana, vismaz 400g augļu un dārzeņu lietošana ikdienā un *H. pylori* eradikācija senākā anamnēzē.

Daudzfaktoru analīzē kļūdaini negatīvi pepsinogēnu testa gadījumi bija saistīti ar smēķēšanu, alkohola patēriņu, *H. pylori* eradikācijas anamnēzi un *H. pylori* infekciju (3. attēls; 3. pielikums, 12. tabula). Lai gan kļūdaini negatīvo gadījumu grupā bija vairāk vīriešu un vīrieši biežāk bija smēķētāji, netika konstatētas ticamas atšķirības papildus sadalot dalībniekus pēc dzimuma.



**3. attēls.** Daudzfaktoru regresijas modelis kļūdaini negatīviem pepsinogēnu testa gadījumiem nosakot kuņģa priekšvēža stāvokļus.

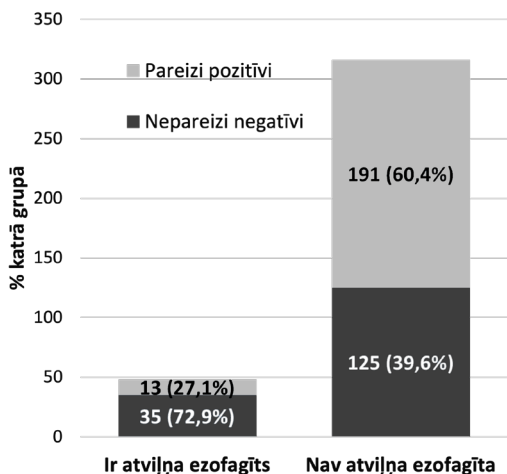
IA – izredžu attiecība, TI – 95% ticamības intervāls, PSI – protona sūkņa inhibitoru lietošana pēdējā mēneša laikā.

Analizējot papildus medicīnas vēstures faktoros, kas varētu ietekmēt kuņģa sekrēciju un līdz ar to pepsinogēnu līmeņus un testa precizitāti, ticama sakarība atrasta ar endoskopiski noteiktu atviļņa ezofagītu (erozīvu ezofagītu). Pētāmā populācijā endoskopiski atviļņa ezofagīts tika konstatēts 48 no 364 (13,2%) dalībnieku. Dalībniekiem ar atviļņa ezofagītu kļūdaini negatīvi pepsinogēnu testa gadījumi bija sastopami ievērojami biežāk, nekā dalībniekiem bez ezofagīta (72,9% iepretim 39,6%,  $p < 0,01$ ) (4. attēls, 2. tabula). Daudzfaktoru analizē kļūdaini negatīvi gadījumi arī bija saistīti ar atviļņa ezofagītu, smēķēšanu un *H. pylori* infekciju, bet negatīvi saistīti ar augstākiem ienākumiem (2. tabula). Kļūdaini negatīvu gadījumu izplatība proporcionāli pieauga līdz ar atviļņa ezofagīta smagumu ( $p < 0,01$ ).

**2. tabula.** Daudzfaktoru regresijas modelis kļūdaini negatīviem pepsinogēnu testa gadījumiem un atviļņa ezofagītu

	IA; 95% TI
atviļņa ezofagīts	4,5; 2,0 – 9,9; $p < 0,001$
smēķēšana	3,3; 1,7 – 6,6; $p = 0,001$
<i>H. pylori</i> infekcija	2,8; 1,6 – 4,5; $p < 0,001$
ienākumi (augsti iepretim zemiem)	0,3; 0,1 – 0,7; $p < 0,01$

IA – izredžu attiecība pielāgota visiem tabulā minētajiem faktoriem, kā arī alkohola, augļu / dārzenų un protona sūkņa inhibitoru lietošanai un ķermeņa masas indeksam. 95% TI – ticamības intervāls.



4. attēls. Kļūdains negatīvu un pareizi pozitīvu pepsinogēnu testa gadījumu dalījums dalībniekiem ar un bez atviļņa ezofagīta.

### 3.4. Populācijas faktori un atšķirības pepsinogēnu vērtībās

Atšķirības iezīmējas salīdzinot pepsinogēnu vērtības, šeit apkopotas būtiskākās. Vidējās Pg I un Pg II vērtības bija augstākas, bet Pg I/II attiecība zemāka *H. pylori* pozitīviem, nekā *H. pylori* negatīviem dalībniekiem. Smēķētājiem bija augstākas Pg I un Pg II vērtības, kā arī augstāka vidējā Pg I/II attiecība nekā nesmēķētājiem (3. tabula).

3. tabula. Pg I, Pg II un Pg I/II attiecības salīdzinājums starp *H. pylori* pozitīviem un negatīviem dalībniekiem un pēc smēķēšanas paradumiem

	Pg I (ng/mL) mediāna; SKI	Pg II (ng/mL) mediāna; SKI	Pg I/II attiecība mediāna; SKI
<b><i>H. pylori</i> ar elptestu</b>			
pozitīvs	47,3; 31,4	18,7; 11,7	2,6; 1,5
negatīvs	33,3; 25,6	8,9; 5,1	4,9; 3,3
p – vērtība *	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<b>Smēķēšana</b>			
nesmēķētāji	36,8; 30,8	12,6; 12,4	2,8; 2,5
bijušie smēķētāji	41,5; 31,1	13,2; 11,4	2,9; 2,4
smēķētāji	46,0; 28,0	14,8; 12,5	3,3; 2,2
p – vērtība**	< 0,01	< 0,01	0,01

\* Atšķirības noteiktas izmantojot *Mann-Whitney U* testu grupu salīdzināšanai.

\*\* Atšķirības noteiktas izmantojot *Kruskal-Wallis* testu grupu salīdzināšanai. SKI – starpkvartīļu intervāls.

Lai labāk izprastu smēķēšanas un *H. pylori* infekcijas ietekmes raksturu, Pg I un Pg I/II vērtības salīdzinātas iedalot dalībniekus grupās ar un bez kuņģa priekšvēža stāvokļiem (4. un 5. tabula). Vidējās Pg I vērtības bija augstākas *H. pylori* pozitīviem nekā *H. pylori* negatīviem dalībniekiem abās grupās – ar un bez kuņģa priekšvēža stāvokļiem.

Grupā bez kuņģa priekšvēža stāvokļiem *H. pylori* pozitīviem dalībniekiem bija zemāka Pg I/II attiecība nekā *H. pylori* negatīviem dalībniekiem neatkarīgi no smēķēšanas paradumiem. Grupā ar kuņģa priekšvēža stāvokļiem vidējā Pg I/II attiecība bija zemāka *H. pylori* pozitīviem nekā negatīviem dalībniekiem tikai smēķētāju grupā. Pretējais redzams bijušajiem un nesmēķētājiem – Pg I/II attiecība bija augstāka *H. pylori* pozitīviem nekā *H. pylori* negatīviem dalībniekiem.

**4. tabula.** Vidējās PgI/II attiecības salīdzinājums pēc smēķēšanas paradumiem un *H. pylori* infekcijas klātbūtnes dalībniekiem ar un bez histoloģiski pierādīta kuņģa priekšvēža stāvokļa

	Nav priekšvēža stāvoklis Pg I/II ng/mL mediāna; SKI		p vērtība*	Ir priekšvēža stāvoklis PgI/II ng/mL mediāna; SKI		p vērtība*
	<i>H. pylori</i> pozitīvie	<i>H. pylori</i> negatīvie		<i>H. pylori</i> pozitīvie	<i>H. pylori</i> negatīvie	
pētāmā populācija	2,9; 1,4	4,4; 1,8	< 0,01	1,7; 1,6	0,9; 1,8	0,01
nesmēķētāji	2,8; 1,4	4,3; 1,8	< 0,01	1,5; 1,5	0,8; 0,9	< 0,01
bijušie smēķētāji	2,9; 0,9	4,7; 1,4	< 0,01	1,8; 1,8	0,8; 0,8	0,02
smēķētāji	3,1; 1,5	4,7; 2,0	< 0,01	1,9; 1,5	3,4; 4,1	0,02

\*Atšķirības noteiktas izmantojot Mann-Whitney U testu salīdzinot *H. pylori* pozitīvo un negatīvo grupu. SKI – starpkvartīļu intervāls.

**5. tabula.** Vidējo PgI vērtību salīdzinājums pēc smēķēšanas un *H. pylori* infekcijas ar un bez histoloģiski pierādīta kuņģa priekšvēža stāvokļa

	Nav priekšvēža stāvoklis PgI ng/mL mediāna; SKI		p vērtība*	Ir priekšvēža stāvoklis PgI ng/mL mediāna; SKI		p vērtība*
	<i>H. pylori</i> pozitīvie	<i>H. pylori</i> negatīvie		<i>H. pylori</i> pozitīvie	<i>H. pylori</i> negatīvie	
pētāmā populācija	51,5; 26,7	37,9; 19,3	< 0,01	30,3; 34,7	8,6; 20,6	< 0,01
nesmēķētāji	51,5; 26,6	35,1; 17,3	< 0,01	26,3; 33,5	7,2; 14,1	< 0,01
bijušie smēķētāji	53,1; 27,6	40,4; 17,0	< 0,01	30,1; 38,9	8,7; 8,9	< 0,01
smēķētāji	51,0; 25,2	46,1; 18,8	0,04	40,5; 38,5	34,3; 33,7	0,12

\*Atšķirības noteiktas izmantojot Mann-Whitney U testu salīdzinot *H. pylori* pozitīvo un negatīvo grupu. SKI – starpkvartīļu intervāls.

### 3.5. Faktoru ietekme uz pepsinogēnu testa precizitāti kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā un pepsinogēnu vērtību pielāgošana

Salīdzinot Pg I un Pg I/II attiecības jutīgumu un specifiskumu kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā izmantojot iepriekš noteiktās pepsinogēnu testa robežvērtības (Pg I/Pg II  $\leq$  2 un Pg I  $\leq$  30 ng/mL) redzams, ka jutīgums un specifiskums ievērojami atšķiras, ja aprēķinus dala pēc *H. pylori* infekcijas un smēķēšanas paradumiem. Smēķētāju grupā testa jutīgums ir ievērojami zemāks, nekā citās grupās, un tas ir saistīts ar *H. pylori* infekcijas klātbūtni (6. tabula).

**6. tabula.** Pepsinogēna testa jutīgums un specifiskums kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā pēc smēķēšanas paradumiem un *H. pylori* klātbūtnes izmantojot iepriekš noteiktās robežvērtības

	Jutīgums (% , 95% TI), specifiskums (% , 95% TI) un laukums zem ROC līknes (AUC)	
	Pg I/Pg II $\leq$ 2	Pg I $\leq$ 30 ng/mL
Visi dalībnieki	65,38 (60,25–70,27); 87,12 (84,67–89,30); 0,82	62,64 (57,44–67,62); 81,56 (78,78–84,12); 0,75
Nesmēķētāji, HP pozitīvi	65,79 (56,32–74,42); 80,08 (74,76–84,70); 0,80	57,02 (47,41–66,25); 85,34 (80,51–89,36); 0,76
Nesmēķētāji, HP negatīvi	81,63 (72,53–88,74); 92,37 (88,21–95,42); 0,88	90,82 (83,28–95,71); 69,92 (63,63–75,69); 0,89
Bijušie smēķētāji, HP pozitīvi	56,82 (41,03–71,65); 83,51 (74,60–90,27); 0,79	50,00 (34,56–65,44); 87,63 (79,39–93,44); 0,74
Bijušie smēķētāji, HP negatīvi	81,48 (61,92–93,70); 94,94 (87,54–98,60); 0,96	88,89 (70,84–97,65); 78,48 (67,80–86,94); 0,93
Smēķētāji, HP pozitīvi	52,00 (37,42–66,34); 87,04 (79,21–92,73); 0,76	32,00 (19,52–46,70); 91,67 (84,77–96,12); 0,63
Smēķētāji, HP negatīvi	32,26 (16,68–51,37); 93,33 (83,80–98,15); 0,68	38,71 (21,85–57,81); 86,67 (75,41–94,06); 0,68

TI – ticamības intervāls; ROC – receiver operating characteristic curve; AUC – laukums zem ROC līknes; Pg – pepsinogēni; HP – *Helicobacter pylori*.

Smēķētājiem aprēķinātas jaunas vērtības izmantojot Joudena indeksu lai atrastu Pg I un Pg I/II robežvērtības ar pēc iespējas augstāku jutīgumu un specifiskumu. Jaunas robežvērtības aprēķinātas arī pārējām grupām, būtiski nesamazinot pepsinogēnu testa specifiskumu (virs 65%) salīdzinājumu veikšanas nolūkā (7. tabula). Iepriekšējo un jauno pepsinogēnu robežvērtību salīdzinājums tieši smēķētājiem redzams 8. tabulā, dalot pēc *H. pylori* klātbūtnes.

7. tabula. Jaunās aprēķinātās pepsinogēnu testa robežvērtības kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanai smēķētājiem pēc *H. pylori* klātbūtnes

Jaunā Pg robežvērtība, jutīgums (%), specifiskums (%), Joudena indekss		
	Pg I/Pg II	Pg I (ng/mL)
Nesmēķētāji, HP pozitīvi	≤ 1,76; 60,5%; 88,0%; 0,49	≤ 30,84 ng/mL; 59,6%; 85,0%; 0,45
Nesmēķētāji, HP negatīvi	≤ 1,81; 81,6%; 92,8%; 0,74	≤ 16,00 ng/mL; 73,5%; 94,5%; 0,68
Bijušie smēķētāji, HP pozitīvi	≤ 2,21; 65,9; 83,5%; 0,49	≤ 33,51 ng/mL; 54,5%; 84,5%; 0,39
Bijušie smēķētāji, HP negatīvi	≤ 2,51; 92,6%; 92,4%; 0,85	≤ 22,75 ng/mL; 85,2%; 94,9%; 0,80
Smēķētāji, HP pozitīvi	≤ 2,07; 56,0%; 85,2%; 0,41	≤ 40,91 ng/mL; 54,0%; 76,9%; 0,31
Smēķētāji, HP negatīvi	≤ 3,01; 48,4%; 86,7%; 0,35	≤ 37,75 ng/mL; 67,7%; 71,7%; 0,39

HP – *Helicobacter pylori*, Pg – pepsinogēns, JJ Joudena indekss.

8. tabula. Iepriekšējo un jauno pepsinogēnu robežvērtību jutīgums un specifiskums nosakot kuņģa priekšvēža stāvokļus smēķētājiem, dalot pēc *H. pylori* klātbūtnes

Pg robežvērtība, jutīgums (%), specifiskums (%)		
	Pg I/Pg II	Pg I (ng/mL)
<b>Smēķētāji <i>H. pylori</i> pozitīvi, vecās robežvērtības</b>	Pg I/II ≤ 2,00	Pg I ≤ 30,00
	52,0% (TI 37,4–66,3)	32,0% (TI 19,52 – 46,70)
	87,0% (TI 79,2–92,7), AUC 0,76	91,7% (TI 84,8–96,1), AUC 0,63
Jaunās robežvērtības	Pg I/II ≤ 2,07	Pg I ≤ 40,91
	56,0%	54,0%
	85,2%, JJ 0,41	76,9 %, JJ 0,31
<b>Smēķētāji <i>H. pylori</i> negatīvi, vecās robežvērtības</b>	Pg I/II ≤ 2,00	Pg I ≤ 30,00
	32,3% (TI 16,7–51,4)	38,7 % (TI 21,9–57,8)
	93,3% (TI 83,8–98,2), AUC 0,68	86,7 % (TI 75,4–94,1), AUC 0,68
Jaunās robežvērtības	Pg I/II ≤ 3,01	Pg I ≤ 37,75 ng/mL
	48,4%	67.7%
	86,7%, JJ 0,35	71.7%, JJ 0.39

Pg – pepsinogēns, JJ – Joudena indekss, AUC – laukums zem ROC līknes, TI – 95% ticamības intervāls.



## 4. DISKUSIJA

### 4.1. *Helicobacter pylori* izplatība un populācijas faktori

Lai gan literatūrā *H. pylori* izplatība visbiežāk tiek saistīta ar zemāku socioekonomisko statusu (Eusebi *et al.*, 2014), pārliecinošu tiešu sakarību ar to atrast neizdevās. Pastāv iespēja, ka ievāktie dati par ienākumiem un nodarbinātību varētu būt neprecīzi, ņemot vērā Latvijā lielo neoficiālo jeb “aplokšņu algu” īpatsvaru (45,5% 2017. gadā) (Sauka & Putnins, 2009), kā rezultātā dalībnieki varēja sniegt neprecīzu informāciju. Ienākumu nevienlīdzības (Džini koeficienta) mazināšanās un ekonomiska izaugsme pēc ekonomiskās krīzes arī varētu radīt apstākļus, kur iespējama asociācija starp *H. pylori*, ienākumiem un bezdarbu izzūd. Toties tā varētu atspoguļoties kā sakarība ar izglītību un citiem ar to saistītiem faktoriem, ieskaitot dzīvesveidu. Šī darba dalībnieku atlasē sākumposmā Latvijai bija ceturtais augstākais Džini koeficients ES-28 valstu kontekstā, kas norāda uz ievērojamu ienākumu nevienlīdzību (Centrālā statistikas pārvalde, 2018).

Ņemot vērā iepriekš minētos apstākļus un darba rezultātus, ar dzīvesveidu saistīti faktori varētu labāk kalpot kā socioekonomiskā stāvokļa un izglītības līmeņa indikatori pētāmā populācijā. Tā varētu paskaidrot, kāpēc daudzfaktoru analizē saglabājās sakarības starp *H. pylori* un dzīvesveida (smēķēšana, alkohola lietošana) vai uztura paradumiem bet ne ienākumiem un izglītību. Te jāpieņem, ka divfaktoru analizē augstākais *H. pylori* pozitīvo īpatsvars bija zemākā izglītības grupā, bet zemākais – augstākās izglītības grupā. Vairumā pētījumu augstāks izglītības līmenis bija saistīts ar zemāku *H. pylori* izplatību (Zhu *et al.*, 2014; EUROGAST, 1993). Papildus izpētē izglītības līmenis bija saistīts ar citiem faktoriem, kas bija ticami saistīti ar *H. pylori*. Zemāks izglītības līmenis, tāpat kā *H. pylori* izplatība, bija saistīts ar mazāku augļu un dārzeņu patēriņu, biežāku karstu ēdienu un dzērienu lietošanu, smēķēšanu, un biežāku kardiovaskulāru un peptiskas čūlas slimību anamnēzi. Iespējams, ka sakarību starp *H. pylori* un izglītību mazina šie un citi ar dzīvesveidu un uzturu saistīti jaucejfaktori, kuru ietekme pārklājas.

Ņemot vērā lielo faktoru skaitu un to iespējamu mijiedarbību, uz taksonomijām balstītā analizē izdevās detalizētāk izpētīt socioekonomisko un dzīvesveida faktoru mijiedarbību, jo dalībnieki tika iedalīti grupās, kuras raksturoja vairāki faktori vienlaicīgi (Poļaka *et al.*, 2021). Sadalot dalībniekus pēc dzimuma, izglītības un ienākumiem tomēr iezīmējās atšķirības – *H. pylori* izplatība bija zemāka sievietēm ar augstāku izglītības līmeni un lielākiem ienākumiem (IA 0,76; 95% TI 0,48–1,20) salīdzinot ar vīriešiem (IA 0,65; 95% TI 0,42–1,01). Ticamība šīm sakarībām bija pie robežvērtības ( $p = 0,056$ ), kas visticamāk saistīts ar ievērojami

mazāku dalībnieku skaitu grupās pēc to pardaļes, kas mēdz būt taksonomijas metodes ierobežojums.

Daudzfaktoru regresiju modeļos ticama cieša sakarība bija starp piena produktu patēriņu un *H. pylori* izplatību. Padziļinātā papildus izpētē jaucējfaktorus atrast neizdevās, kas norāda uz piena produktu patēriņu kā ciešu iespējams neatkarīgu ar *H. pylori* izplatību saistītu faktoru. Analīzes veikšanas laikā no piena produktiem netika atsevišķi izdalīts piens, bet paredzams, ka tas sastāda ievērojamu proporciju no kopumā lietoto piena produktu apjoma.

Uzskata, ka piens var kalpot kā vektors *H. pylori* infekcijai – baktērija atrasta līdz pat 50% svaigpiena paraugu Itālijā (Quaglia *et al.*, 2008, Mousav *et al.*, 2014). Latvijā svaigpiena lietošana bija ļoti populāra, īpaši lauku apvidos. Piena produktu patēriņa sakarības ar *H. pylori* iespējams skaidrojums ir, ka šo indivīdu paradumi atspoguļo bērnības paradumus, kas, iespējams, noveda pie baktērijas iegūšanas bērnībā un jaunībā. Uzskata, ka ar *H. pylori* inficējas biežāk tieši bērnībā, jo īpaši zemākos socioekonomiskos apstākļos (Eusebi *et al.*, 2014; Ozbey *et al.*, 2017). Ja dalībnieki, kuri lieto biežāk piena produktus tos arī bieži lietoja bērnībā, tad sakarību ar *H. pylori* izplatību varētu skaidrot ar infekcijas iegūšanu pirms vairākiem gadu desmitiem.

## 4.2. Seroloģiski noteikta kuņģa atrofija un populācijas faktori

Seroloģiski noteiktas kuņģa atrofijas izplatība pētījuma populācijā būtiski neatšķirās no citām Eiropas valstīm – 7,7% iepretim 4,4% Itālijā, 6,3% Vācijā un 6,6% Zviedrijā (Brenner *et al.*, 2007; Storskrubb *et al.*, 2008; Di Mario *et al.*, 2017). Jāņem vērā, ka seroloģiskas atrofijas salīdzināšanu starp valstīm ierobežo atšķirības metodoloģijā un iekļautajās vecuma grupas.

Darbā konstatētas ticamas sakarības starp seroloģisku atrofiju un ar uzturu saistītiem faktoriem, smēķēšanu, alkohola patēriņu un *H. pylori*. Sakarību raksturs atšķirās no vairākiem citiem pētījumiem. Rezultātu salīdzināšanu apgrūtinā apstākļi, ka vairums lielo pētījumu ar uzturu saistītus faktorus pētījuši attiecībā uz kuņģa vēža risku, nevis kuņģa atrofiju un pepsinogēniem. Detalizētāka diskusija par atsevišķu faktoru saistību ar seroloģisku kuņģa atrofiju atrodama pievienotajā publikācijā (Razuka-Ebela *et al.* 2022a).

Pārsteidzošākais rezultāts bija *H. pylori* negatīvā sakarība ar seroloģisku atrofiju, kas saglabājās neatkarīgi no *H. pylori* noteikšanai izmantotās metodes (elptestes vai seroloģija) un arī pēc dalībnieku, kuriem jebkad bijusi eradikācija, izslēgšanas no analīzes. Šāda sakarība konstatēta tikai vēl vienā pētījumā (Muhsen *et al.*, 2019). Vairākos pētījumos konstatēta cieša sakarība starp *H. pylori* un hronisku atrofisku gastrītu neatkarīgi no tā, vai atrofijas noteikšanai izmantota seroloģija vai histoloģija (Weck & Brenner, 2008; Adamu *et al.*, 2011). Abu atrofijas noteikšanas metožu iespējamie trūkumi, kā arī *H. pylori* izzušana līdz ar smagāku atrofisku gastrītu un vecumu varētu novest pie sakarības

ar *H. pylori* mazināšanos un izzušanu (Weck & Brenner, 2008). Lai gan šajā darbā dalībnieki ar seroloģisku atrofiju bija vecāki par dalībniekiem bez tās, pēc padziļinātas izpētes vecums neapstiprinājās kā izšķirošs faktors – daļēji dalībniekus pēc ABCD klasifikācijas, grupā D esošie (*H. pylori* negatīvi ar seroloģisku atrofiju) nebija būtiski vecāki par C grupas dalībniekiem (*H. pylori* pozitīvi ar seroloģisku atrofiju).

Šajā darbā grupās C (*H. pylori* pozitīvi ar seroloģisku atrofiju) un D (*H. pylori* negatīvi ar seroloģisku atrofiju) bija līdzīgs skaits dalībnieku, sastādot 3,4% un 3,8% no pētāmās populācijas. Atbilstoši atrofijas patoģenētiskiem mehānismiem varēja paredzēt, ka grupā C tomēr būs vairāk dalībnieku nekā grupā D. Šis novērojums liek uzdot jautājumu, vai kļūdaini negatīvi seroloģiskas atrofijas rezultāti būtiski ietekmē modeli un izrietošās sakarības.

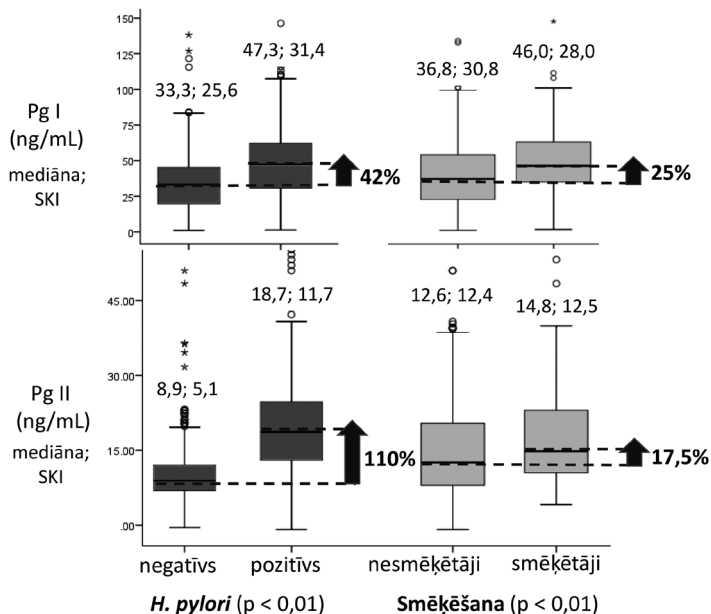
### **4.3. Faktoru ietekme uz pepsinogēnu testa precizitāti kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā**

Pētāmā populācijā izmantojot esošās pepsinogēnu testa robežvērtības, bija salīdzinoši liels skaits kļūdaini negatīvu gadījumu (160 no 367 histoloģiski pierādītiem priekšvēža stāvokļiem, jeb 43,6%), norādot uz to, ka testa precizitāti pētāmā populācijā ir nepieciešams uzlabot.

Pepsinogēna testa precizitāti būtiski ietekmēja smēķēšana un *H. pylori* infekcija. Detalizēta diskusija par citiem faktoriem, ar kuriem atrastas sakarības ar lielāku kļūdaini negatīvu gadījumu risku atrodama pievienotajā publikācijā (Razuka-Ebela *et al.*, 2022b).

Kā šajā darbā, tad arī citos pētījumos augstākas Pg I un Pg II vērtības bija *H. pylori* pozitīviem, nekā *H. pylori* negatīviem dalībniekiem (Sun *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2016, Yu *et al.*, 2021). Lielāka starpība Pg II nekā Pg I vērtībās, salīdzinot *H. pylori* pozitīvus dalībniekus ar *H. pylori* negatīviem dalībniekiem, varētu pamatot salīdzinoši mazāku Pg I/II vērtību *H. pylori* pozitīvu dalībnieku vidū (Pg II par 110%, kamēr Pg I par 42% lielāks, 5. attēls, 3. tabula). Šo skaidrojumu atbalsta arī tas, ka *H. pylori* infekcijas radītais iekaisums var būtiski palielināt tieši Pg II sekrēciju, jo kuņģa antrālā daļa satur gan Pg II izdalošās šūnas, gan nodrošina vislabāko vidi *H. pylori* izdzīvošanai (Correa & Piazuelo, 2012; Yu *et al.*, 2021).

Šajā darbā smēķētājiem bija augstākas Pg I, Pg II, kā arī Pg I/II vērtības, salīdzinot ar nesmēķētājiem. Lielāku Pg I/II attiecību smēķētājiem varētu skaidrot ar proporcionāli lielāku starpību Pg I nekā Pg II vērtībās salīdzinot smēķētājus ar nesmēķētājiem (Pg I par 25%, kamēr Pg II par 17,5% lielāks, 5. attēls, 3. tabula). No literatūras zināms, ka smēķēšana var palielināt kuņģa sekrēciju un saistīta ar Pg I pieaugumu (Parente *et al.*, 1985; Sakamoto, 2010). Ar salīdzinoši lielāku Pg I līmeni varētu skaidrot, kāpēc smēķētāji ir biežāk kļūdaini negatīvi.



5. attēls. *H. pylori* un smēķēšanas ietekmes uz pepsinogēnu vērtībām attēlojums.

Pg – pepsinogēns, SKI – starpkvartīļu intervāls. Norādītas pepsinogēnu vērtību starpības (%) salīdzinot attiecīgās grupas. Detalizēti dati atrodami 3. tabulā.

Veicot papildus padziļinātas izpētes, tika konstatēts, ka *H. pylori* un smēķēšana pepsinogēnu līmeņus ietekmē ne tikai kā atsevišķi faktori, bet ir vērojama to efektu mijiedarbība – *H. pylori* spēj modificēt smēķēšanas ietekmi uz pepsinogēnu līmeņiem, tādējādi būtiski ietekmējot pepsinogēna testa precizitāti.

Šo novērojumu apstiprina precizitātes aprēķini pepsinogēnu testam, kur smēķētājiem ir ievērojami zemāki jutīguma rādītāji. Savukārt viszemākie jutīguma rādītāji Pg I un Pg I/II ir tieši smēķētājiem bez *H. pylori* infekcijas (6. tabula), iespējams sakarā ar smēķēšanas izraisīto Pg I pieaugumu. Smēķētājiem ar *H. pylori* infekciju testa jutīgums arī bija ievērojami zemāks Pg I vērtībai, bet labāks Pg I/II vērtībai, iespējams sakarā ar salīdzinoši augstāku Pg II līmeni uz *H. pylori* infekcijas rēķina (5. attēls). Tas norāda, ka ar Pg vērtību izmaiņu saistītu īpatnību dēļ *H. pylori* infekcijas radītais efekts darbojas pretēji smēķēšanas radītajam, tādējādi smēķētāju vidū uzlabojot pepsinogēna testa precizitāti, mazinot kļūdaini negatīvu gadījumu risku.

Ņemot vērā, ka vairākos pētījumos atrasta sakarība starp dzimumu, vecumu un pepsinogēnu līmeņiem, un to, ka daudzfaktoru analizē bija vērojama sakarība starp kļūdaini negatīviem gadījumiem un vīriešu dzimumu, izpēte būtu

jāatkārto lielākā populācijā kas pieļautu vienlaicīgi grupas sadalīt pēc dzimuma, smēķēšanas paradumiem un *H. pylori* infekcijas ņemot vērā arī vecumu. Veicot jutīguma un specifiskuma analīzi un papildus iedalot grupas pēc dzimuma, tās kļuva pārāk mazas, lai varētu izvērtēt dzimuma iespējamo lomu.

#### 4.4. Pepsinogēnu testa precizitātes uzlabošana

Veiktie jutīguma un specifiskuma aprēķini norāda, ka smēķēšana un *H. pylori* infekcija, kā arī abu šo faktoru kombinācija spēj būtiski ietekmēt pepsinogēna testa spēju identificēt kuņģa priekšvēža stāvokļus. Smēķēšanas ietekme uz pepsinogēna testa precizitāti bija atkarīga no *H. pylori* infekcijas klātbūtnes. Līdz ar to testa uzlabošanā jāņem vērā ne tikai smēķēšanas un *H. pylori* infekcijas kā atsevišķu faktoru ietekme uz pepsinogēnu testu, bet arī abu šo faktoru mijiedarbība.

*H. pylori* pozitīviem un negatīviem smēķētājiem bija iespējams aprēķināt jaunas pepsinogēnu testa robežvērtības lai uzlabotu to jutīgumu kuņģa priekšvēža stāvokļu identificēšanā. Pēc veiktajiem aprēķiniem redzams, ka smēķēšanas efekts uz pepsinogēnu vērtībām atšķiras ne tikai starp *H. pylori* pozitīvo un negatīvo grupu, bet arī globālākā līmenī starp dalībniekiem ar un bez histoloģiski pierādītiem kuņģa priekšvēža stāvokļiem.

No pieejamiem publicētiem datiem, pagaidām tikai Tong *et al.* (2017) izdevies uzlabot Pg precizitāti atrofiska gastrīta noteikšanā pielāgojot pepsinogēnu robežvērtības atbilstoši *H. pylori* klātbūtnei Ķīnā. Uz doto brīdi nav citu publicētu datu, kur Pg robežvērtības modificētas vienlaikus ņemot vērā divus faktorus – gan *H. pylori* infekciju, gan smēķēšanu.

Balstoties uz iegūtajiem rezultātiem, uzlabot kuņģa priekšvēža stāvokļu skrīningu varētu divos veidos:

1. Aprēķinot un izmantojot jaunas pepsinogēnu testa robežvērtības smēķētājiem;
2. Neizmantojot pepsinogēnu testu kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanai smēķētājiem.

Lai lemtu par labāko pieeju, pirmkārt nepieciešams lielākā populācijā atkārtot pepsinogēna testa precizitātes aprēķinus, ņemot vērā dzimumu un vecumu. Tāpat būtu nepieciešams analīzi atkārtot citas valsts populācijā lai izvērtētu, vai rezultāti ir savienojami starp dažādām populācijām. Papildus nepieciešams veikt arī izmaksu efektivitātes aprēķinus. Ņemot vērā pepsinogēna, kā marķiera raksturu, lietderīgi būtu pētījuma dalībniekiem pēc noteikta laika pepsinogēnu vērtības noteikt atkārtoti, lai novērtētu, vai dažādos laikos noteiktās vērtības korelē.

## 4.5. Pētījuma priekšrocības un ierobežojumi

Darbā iekļauts liels dalībnieku skaits un vienlaicīgi izpētīts liels skaits dažādu populācijas faktoru. Eiropas valstīs šādi pētījumi trūkst un tajos nav vienlaicīgi ietverts tik apjomīgs faktoru skaits. Ietverto faktoru un dalībnieku skaits palielina iespēju atrast sakarības, kuras citādi varētu tikt nepamanītas. Lielais skaits dažkārt arī savstarpēji saistīto iekļauto faktoru ļāva veikt padziļinātas papildus izpētes un validācijas aprēķinus, lai pamatotu un rastu skaidrojumu atrastajām sakarībām.

Darbam ir šķērsriezuma pētījumam atbilstoši ierobežojumi. Nevar izvirzīt pārlicinošus secinājumus par to, vai dzīvesveida faktori ir saistīti ar *H. pylori* infekciju, vai tie tomēr atbilst ilgtermiņa sekām, piemēram, socioekonomiskam stāvoklim vai bērnības apstākļiem. Tāpat arī nevar izvirzīt secinājumus par cēloņsakarībām starp dzīvesveida faktoriem un kuņģa gļotādas atrofiju.

Datu ievākšana par uztura paradumiem balstījās uz dalībnieku atmiņu, to precizitāti var ietekmēt ar atmiņu saistīta neobjektivitāte (*recall bias*), un līdz ar to dati var arī precīzi neatspoguļot ikdienas uztura paradumus ilgtermiņā. Tāpēc rezultāti jāvērtē kritiski, jo īpaši spriežot par faktoru iespējamo iedarbību ilgtermiņā. Darba gaitā vadoties pēc dalībnieku un pētījuma grupas atsauksmēm un novērojumiem veikti vairāki labojumi anketā lai uzlabotu ievākto datu precizitāti un pielīdzināšanas iespējas.

Šajā darbā atrasto sakarību pilnvērtīgai analīzei un cēloņsakarību noteikšanai nepieciešams veikt prospektīvu pētījumu. Ņemot vērā pētījuma GISTAR prospektīvo dizainu, pastāv iespēja šo darbu nākotnē papildināt.

Tomēr, neskatoties uz šķērsriezuma pētījumam raksturīgajiem ierobežojumiem, darba gaitā veiktās izpētes rezultātā rasts klīnisks pienesums – konstatēts, ka pepsinogēnu testa precizitātes uzlabošanai nepieciešama atšķirīga pieeja smēķētājiem.

## 5. SECINĀJUMI

Darba gaitā pierādītas sākotnēji izvirzītās hipotēzes:

1. Populāciju raksturojoši faktori ietekmē pepsinogēnu testa precizitāti kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā.
2. Pepsinogēnu testa precizitāti kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā iespējams uzlabot, izmantojot populācijai pielāgotu pieeju.

Balstoties uz iegūtajiem rezultātiem izstrādāti sekojoši secinājumi:

1. Daudzfaktoru analīze uzrādīja *H. pylori* infekcijas pozitīvu saistību ar smēķēšanu, regulāru pārmērīgu alkohola lietošanu, piena produktu patēriņu un ļoti karstu ēdienu un dzērienu lietošanu, bet negatīvu saistību ar augļu un dārzeņu patēriņu, kā arī peptiskas čūlas un sirds un asinsvadu slimību anamnēzi.
2. Daudzfaktoru analīze uzrādīja seroloģiskas kuņģa atrofijas izplatības pozitīvu saistību ar pieaugošu vecumu, smēķēšanu, biežāku alkohola, kafijas un sīpolu lietošanu, bet negatīvu saistību ar *H. pylori* infekciju, biežāku marinētu produktu un protona sūkņa inhibitoru lietošanu.
3. Kļūdaini negatīvs pepsinogēnu tests, nosakot kuņģa priekšvēža stāvokļus, biežāk bija smēķētājiem, dalībniekiem ar *H. pylori* infekciju, atviļņa ezofagītu, *H. pylori* eradikāciju anamnēzē un tiem, kuri vairāk patērēja alkoholu.
4. Pepsinogēna testa precizitāti būtiski pasliktināja smēķēšana, un tās ietekmes raksturu noteica smēķēšanas mijiedarbība ar *H. pylori* infekciju. Šie faktori būtu jāņem vērā, interpretējot pepsinogēna testa rezultātus kuņģa priekšvēža stāvokļu noteikšanā.
5. Darba rezultāti norāda, ka kuņģa priekšvēža stāvokļu skrīninga uzlabošanai nepieciešama atšķirīga pieeja smēķētājiem. Pepsinogēnu testa precizitāti smēķētājiem iespējams uzlabot, izmantojot šai grupai pēc *H. pylori* klātbūtnes pielāgotas vērtības.

### Darba praktiskā nozīme

Darbs parāda, ka pepsinogēna testa precizitāti iespējams uzlabot, izmantojot populācijai pielāgotu pieeju. Darbā pirmo reizi aprēķinātas jaunas pepsinogēna testa robežvērtības ņemot vērā divus faktoros – smēķēšanu un *H. pylori* infekciju, tādā veidā uzlabojot testa precizitāti smēķētājiem nosakot kuņģa priekšvēža stāvokļus. Izpētē izmantotie aprēķini balstīti ne tikai uz smēķēšanas un *H. pylori* kā izolētu faktoru ietekmi, bet ņemot vērā arī to būtisko mijiedarbību. Rezultāti norāda, ka kuņģa priekšvēža stāvokļu skrīninga uzlabošanai nepieciešama atšķirīga pieeja smēķētājiem – vai nu pielāgojot pepsinogēnu testa robežvērtības pēc *H. pylori* klātbūtnes, vai neizmantojot testu šajā subpopulācijā. Lai izšķirtos par pieeju, nepieciešams atkārtot pētījumu ar lielāku dalībnieku skaitu un veikt izmaksu efektivitātes aprēķinus.

## PATEICĪBAS

Vēlos izteikt pateicību

Darba zinātniskiem vadītājiem prof. Mārcim Lejam un Jin Young Park par iespēju darbu uzsākt, iedvesmu to turpināt, atbalstu darba tēmas un publikāciju izstrādē un padomiem pētniecībā.

Vecākiem asoc. prof. Ingunai Ebelai un docentam Romualdam Ražukam par neatsveramo atbalstu ilgo studiju gadu laikā, kas bija izšķirošs priekšnoteikums darba realizēšanai, padomiem publikāciju izstrādē, kā arī promocijas darba rediģēšanu.

Asoc. prof. Ilvai Daugulei un Daigai Šantarei par ieteikumiem promocijas darba rakstīšanā, asoc. prof. Liliānai Civjānei un Rolando Herrero par padomiem publikāciju rakstīšanā.

Pētniecei Inesei Poļakai par atbalstu analītisko metožu apguves ceļā un tālāko sadarbību.

GISTAR pētījuma kolektīva dalībniekiem par sadarbību pētījuma ietvaros, kas tiešā veidā ietekmēja arī šī darba īstenošanu – Sergejam Paršutinam, Aigai Rūdulei un citiem.



# PIELIKUMI

## Pielikums Nr. 1

### Referāti starptautiskās zinātniskās konferencēs ar publicētām tēzēm

1. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Ebela I, Daugule I, Santare D, Sjomina O, Leja M. (2022). Effect of smoking on serum pepsinogen values modified by the presence of *Helicobacter pylori*. *European Journal of Clinical Investigation* 52(S11): 56th Annual Scientific Meeting, 8–10 June, 2022, Bari, Italy, 56ASM-0210, 169. <https://onlinelibrary.wiley.com/toc/13652362/2022/52/S1> ISSN 1365-2362.
2. Razuka-Ebela D, Polaka I, Ebela I, Daugule I, Herrero R, Leja M, Santare D, Sjomina-Gubareva O, Parshutin S. (2022). Reflux esophagitis associated with false negative cases in pepsinogen testing for precancerous gastric lesions. European Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG), Abstracts 2704–8845. *Microbiota in Health and Disease* 4(3):e735:68. <https://www.microbiotajournal.com/article/735>
3. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Ebela I, Daugule I, Santare D, Sjomina O, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2022). Current Smoking Associated with Precancerous Gastric Lesions “Missed” by Serologic Pepsinogen Testing. *Medicina (Kaunas)* 58(S1): International Scientific Conference on Medicine, 80th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga: Abstracts (2022):22. [https://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2022-1-Medicina.pdf](https://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2022-1-Medicina.pdf)
4. Razuka-Ebela D, Polaka I, Ebela I, Daugule I, Young Park J, Leja M (2021). Current smoking and *H. pylori* status associated with precancerous lesions “missed” by serologic pepsinogen testing. 34<sup>th</sup> International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer 18 September 2021. *Microb Health Dis* 3:e612, P03.02, 50–51.
5. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Daugule I, Ebela I, Santare D, Sjomina O, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). Serologically determined gastric atrophy associated with lifestyle, dietary factors and *Helicobacter pylori* status. *United European Gastroenterology Journal* 8(S8): 28th United European Gastroenterology Week Virtual 2020, 228. [https://journals.sagepub.com/toc/uega/8/8\\_suppl](https://journals.sagepub.com/toc/uega/8/8_suppl) ISSN 2050-6406.
6. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Daugule I, Ebela I, Santare D, Sjomina O, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). Factors associated with gastric atrophy ‘missed’ by serologic testing. *United European Gastroenterology Journal* 2020, 8(S8): 28th United European Gastroenterology Week Virtual 2020, 230. [https://journals.sagepub.com/toc/uega/8/8\\_suppl](https://journals.sagepub.com/toc/uega/8/8_suppl) ISSN 2050-6406.
7. Park JY, Polaka I, Parshutin S, Kikuste I, Isajevs S, Liepniece-Karele I, Daugule I, Ražuka-Ebela D, Knaze V, Downham L, Murillo R, Herrero R, Leja M. (2020). Results from the Pilot study of the multicentre randomised trial of *H. pylori* eradication and pepsinogen testing for prevention of gastric cancer mortality (the GISTAR Pilot study). 3rd Seoul International Symposium on *Helicobacter* and Upper Gastrointestinal Diseases (SI-HUG 2020) July 17–18, 2020, Seoul, Korea.
8. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Sjomina O, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). Presence and severity of symptom-based gastroesophageal reflux disease associated with levels of pepsinogen. *Medicina (Kaunas)* 56(S1): International Scientific Conference on Medicine, 78th International Scientific

Conference of the University of Latvia, Riga: Abstracts (2020):21. [http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2020-1-Medicina.pdf](http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2020-1-Medicina.pdf)

9. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Sjomina O, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). *Helicobacter pylori* infection, cardiovascular disease and its risk factors in Latvia. *Medicina (Kaunas)* 56(S1): International Scientific Conference on Medicine, 78th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga: Abstracts (2020):256. [http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2020-1-Medicina.pdf](http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2020-1-Medicina.pdf)
10. Aleksejeva J, Razuka-Ebela D, Daugule I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). Decreased pepsinogen level in relation to presence of menopause in the GISTAR study population in Latvia. *Medicina (Kaunas)*, 56(S1): International Scientific Conference on Medicine, 78th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga: Abstracts (2020):252. [http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2020-1-Medicina.pdf](http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2020-1-Medicina.pdf)
11. Aleksejeva J, Razuka-Ebela D, Daugule I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). *H. pylori* prevalence in individuals with allergic disease in the Latvian population. *Helicobacter* 25(S1): The Year in Helicobacter: 33rd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer 12 September 2020, EP7.07. <https://onlinelibrary-wileycom.databazes.lanet.lv/toc/15235378/2020/25/S1>
12. Aleksejeva J, Razuka-Ebela D, Daugule I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2019). Association between decreased level of pepsinogen with different dietary factors and *Helicobacter pylori* seropositivity. *Helicobacter* 24(S1): The Year in Helicobacter: 32nd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, Innsbruck, Austria, 5–7 September 2019, P4.18. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/hel.12647> ISSN 1083-4389
13. Ražuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Herrero R, Park JY, Leja M. (2019). *Helicobacter pylori* infection is inversely associated with self-reported cardiovascular disease in the GISTAR study population in Latvia. *Helicobacter* 24(S1): The Year in Helicobacter: 32nd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, Innsbruck, Austria, 5–7 September 2019, P2.05. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/hel.12647>
14. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Tzivian L, Park JY, Leja M. (2019). Individual characteristics associated with *Helicobacter pylori* infection in the GISTAR study population in Latvia. *United European Gastroenterology Journal* 7(S8): 27th United European Gastroenterology Week Barcelona, Spain, October 2019:728–729. [https://www.ueg.eu/fileadmin/user\\_upload/documents/week2019/UEG2019\\_Abstract\\_book.pdf](https://www.ueg.eu/fileadmin/user_upload/documents/week2019/UEG2019_Abstract_book.pdf)
15. Aleksejeva J, Razuka-Ebela D, Daugule I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2019). *H. pylori* status and older age is more related to decreased pepsinogen level compared to different dietary factors. *United European Gastroenterology Journal* 7(S8): 27th United European Gastroenterology Week, Barcelona, Spain, October 2019:43. <https://ueg.eu/files/778/e07413354875be01a996dc560274708e.pdf>
16. Razuka-Ebela D, Ebela I, Zile I, Parshutin S, Tzivian L, Leja M. Factors associated with the eradication of *Helicobacter pylori* in the population of Latvia. (2018). *Helicobacter* 23(S1): 31st International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation

- and Cancer (EHMSG), Kaunas, Lithuania, 14–15 September 2018:59–60. <https://doi.org/10.1111/hel.12525>. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/hel.12525> ISSN 1083-4389.
17. Aleksejeva J, Razuka-Ebela D, Daugule I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2019). Decreased pepsinogen level in relation to presence of menopause in the GISTAR study population in Latvia. *Helicobacter* 24(S1): The Year in Helicobacter: 32nd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, Innsbruck, Austria, 5–7 September 2019:W1.7. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/hel.12647> ISSN 1083-4389.
  18. Razuka-Ebela D, Ebela I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. The prevalence of gastroesophageal reflux disease and its risk factors in Latvia. (2019). *Medicina (Kaunas)* 55(S1): International Scientific Conference on Medicine, 77th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, 22 February 2019: Abstracts (2019):56. [http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2019-1-Medicina.pdf](http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2019-1-Medicina.pdf)
  19. Razuka-Ebela D, Ebela I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2019). Association between gastroesophageal reflux disease, gastric atrophy and *Helicobacter pylori* infection in Latvia. *Medicina (Kaunas)* 55(S1): International Scientific Conference on Medicine, 77th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, 22 February 2019: Abstracts (2019):149. [http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2019-1-Medicina.pdf](http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2019-1-Medicina.pdf)
  20. Razuka-Ebela D, Ebela I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2018). The prevalence of gastroesophageal reflux disease and its risk factors in Latvia. 1st European Conference of Young Gastroenterologists “Challenges in Clinical Gastroenterology and Hepatology,” 6–9 December, 2018, Zagreb, Croatia. Zagreb: Croatian Society of Gastroenterology, 2018:191–192. <https://ecyg.eu/wp-content/uploads/2019/07/ECYG-2018-program-WEB.pdf>
  21. Razuka-Ebela D, Ebela I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2018). Association of gastroesophageal reflux disease, gastric atrophy and *Helicobacter pylori*. 1st European Conference of Young Gastroenterologists “Challenges in Clinical Gastroenterology and Hepatology,” 6–9 December 2018, Zagreb, Croatia. Zagreb: Croatian Society of Gastroenterology Zagreb, 2018. <https://ecyg.eu/wp-content/uploads/2019/07/ECYG-2018-program-WEB.pdf>
  22. Ražuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Tzivian L, Leja M. (2019). Sociodemographic, Lifestyle and Medical Risk factors for *Helicobacter pylori* infection in the GISTAR study population in Latvia. *Medicina (Kaunas)* 55(S1): International Scientific Conference on Medicine, 77th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, 22 February 2019: Abstracts (2019):57. <http://medicina.lsmuni.lt/international-scientific-conference-on-medicine/>
  23. Ražuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2018). Association between eradication of *Helicobacter pylori* and a family history of cancer in the Latvian Population. 7th Annual International Scientific Conference “Medicine Pressing Questions” & Satellite Forum on Public Health and Healthcare Politics, 2–3 May 2018, Baku.
  24. Ražuka-Ebela D, Zile I, Santare D, Polaka I, Parshutin S, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2018). Factors associated with being up-to-date with colorectal cancer screening in the Latvian population. Gastroenterology & Gastrointestinal Oncology Endorsed by European Society of Digestive Oncology (ESDO), 76th

International Scientific Conference on Medicine of the University of Latvia, 23 February 2018, Book of Abstracts. Riga: University of Latvia, 66. ISBN 978-9934-18-310-2.

25. Ražuka-Ebela D, Grīnberga-Dērica I, Šķendere I, Daugule I, Rūdule A, Rudzīte D, Šantare D, Polaka I, Ebela I, Murillo R, Young Park J, Herrero R, Leja M. Role of dietary habits in *Helicobacter pylori* infection in the Latvian population. Gastroenterology & Gastrointestinal Oncology Endorsed by European Society of Digestive Oncology (ESDO), 75<sup>th</sup> Scientific Conference of the University of Latvia – International Medical section 2017, Book of Abstracts. Riga: University of Latvia, 73. ISBN 978-9934-18-217-4.

### **Referāti starptautiskās zinātniskās konferencēs bez publicētām tēzēm**

26. Ražuka-Ebela, Polaka I, Ebela I, Daugule I, Parshutin S, Santare D, Leja M. (2022). In search of a population tailored approach to improve the performance of pepsinogen testing for precancerous gastric lesions. European Association for Gastroenterology, Endoscopy and Nutrition (EAGEN). European Bridging Meeting in Gastroenterology, 11.11.2022, Kaunas, Lithuania.
27. Ražuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Daiga Š, Ebela I, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2019). Analysis of factors associated with decreased pepsinogen in the GISTAR study population in Latvia. European Association for Gastroenterology, Endoscopy and Nutrition. European Bridging Meeting in Gastroenterology, Warsaw, Poland, 15–16.11.2019:1–2.

## Pielikums Nr. 2

### Galvenie no aptaujas anketas iegūtie faktori (mainīgie) un to kodēšana

1. Sociodemogrāfiskie faktori – vecums, dzimums, tautība, izglītības līmenis (pamatskolas vai zemāka, vispārējā vidējā, profesionālā tehniskā, augstākā izglītība), mājsaimniecības ienākumi uz vienu ģimenes locekli pēc nodokļu nomaksas (zem 250, 250–500, 500–1000, virs 1000 Euro) un nodarbinātības statuss (nodarbinātais vai pašnodarbinātais, bezdarbnieks, pensionārs);
2. Smēķēšana – smēķētāji, bijušie smēķētāji un ne-smēķētāji;
3. Uzturs – vismaz 400 g augļu un dārzeņu dienā pēdējās nedēļas laikā (jā, nē) atbilstoši PVO un FAO rekomendācijām (PVO, 2003a), vismaz 200 g piena produktu dienā pēdējās nedēļas laikā, putnu un sarkanās gaļas dienas patēriņš porcijās (1 porcija = 100g), karstu ēdienu un dzērienu, kā arī asu ēdienu patēriņš (reizes nedēļā). Ar produktu patēriņa biežuma anketu tika ievākti dati par produktu patēriņu ikdienā parastā nedēļā pēdējā gada laikā (ar kategorijām retāk kā reizi nedēļā, vismaz vienu reizi nedēļā, divas līdz četras reizes, piecas līdz septiņas reizes nedēļā): zivis, biezpiens, kefirs, olas, pākšaugi, gaļas izstrādājumi, siers, putnu un sarkanā gaļa, augļi, dārzeņi, marinēti, kaltēti, sāļiti un kūpināti produkti, sīpoli un ķiploki, saldināti dzērieni, malta un šķīstoša kafija, zaļā un melnā tēja. Darba gaitā uzlabojot anketu tajā iekļautas kategorijas saldumi, maize un graudaugi. Dzērienu kategorijas (kafija, tēja, piens) pārveidotas skaitliskās vērtībās (krūzes dienā) ar mērķi izveidot uztura paradumu grupas (*patterns*). Sāls patēriņš izvērtēts atbilstoši PVO un Finbalt uztura anketas paraugam – vai papildus sāls tiek pievienots jau sāļtam ēdienam (nekad, dažkārt pēc pagāršošanas, vienmēr) (PVO, 2003b; Finbalt, 2007).
4. Alkohola patēriņš – vadoties pēc alkoholisko dzērienu veida un daudzuma (ml) tika izrēķināts etanola (gramos) patēriņš nedēļā. Izveidota papildus kategorija epizodiska pārmērīga alkohola lietošana (*binge-like drinkers*), iedalot dalībniekus trīs kategorijās atkarībā no tā, cik bieži tiek patērēti 200g alkohola (etanola saturs vismaz 40%) vienā reizē pēdējā gada laikā (netiek, retāk kā reizi mēnesī, vismaz vienu reizi mēnesī) (Nugawela *et al.*, 2016).
5. *Ķermeņa masas indekss* – <18.5 kg/m<sup>2</sup> (samazināts), 18.5–24.9 kg/m<sup>2</sup> (normāls), 25.0–29.9 kg/m<sup>2</sup> (palielināts) un ≥ 30.0 kg/m<sup>2</sup> (aptaukošanās).
6. Fiziskā aktivitāte – ar anketu iegūtie dati par fiziskās aktivitātes intensitāti un ilgumu darbā un brīvajā laikā tika izmantoti lai izveidotu kategorijas vidējas intensitātes (vismaz 150 minūtes nedēļā) un intensīvas (vismaz 75 minūtes nedēļā) fiziskas aktivitātes darbā un brīvajā laikā atbilstoši PVO rekomendācijām par fiziskās aktivitātes daudzumu, kas nepieciešams, lai mazinātu nepārnēsājamo slimību attīstības risku (PVO, 2010).
7. Medicīniskā anamnēze – slimību anamnēze, pēdējā mēneša laikā izmantotie medikamenti (protonu sūkņa inhibitori, H<sub>2</sub> receptoru antagonisti, aspirīns, antihipertensīvie līdzekļi, nesteroidie pretiekaisuma līdzekļi u.c.), *H. pylori* eradikācijas terapijas kurss vairāk kā pirms gada.
8. *Ģimenes anamnēze – ļaundabīgi audzēji pirmās (vecāki, māšas, brāļi, bērni) un otrās pakāpes (vecvecāki, tantes un onkuļi) radiniekiem.*
9. Kuņģa un zarnu trakta izmeklējumu (augšējā endoskopija, kolonoskopija) un kolorektālā vēža skrīninga veikšana pēdējo trīs gadu laikā.

## Pielikums Nr. 3

### Tabulas

**1. tabula.** Sociodemogrāfiskie faktori pētāmā populācijā un pēc seroloģiski noteiktas *H. pylori*

Mainīgie, n (%)	Pētāmā populācija, n = 1885	HP-pozitīvi, n = 1044	HP-negatīvi, n = 841	p vērtība*
Dzimums (vīrieši)	711 (37,7)	406 (38,9)	305 (36,3)	0,24
Vecums (gados), mediāna, SKI	52,0 SKI 12	52,0 SKI 12	52,0 SKI 12	0,82
Izglītība				
pamatskolas vai zemāka (0–9 gadi)	77 (4,1)	50 (4,8)	27 (3,2)	0,03
vispārējā vidējā (10–12 gadi)	333 (17,7)	190 (18,2)	143 (17,0)	
profesionālā tehniskā	860 (45,6)	490 (46,9)	370 (44,0)	
augstākā izglītība	615 (32,6)	314 (30,1)	301 (35,8)	
Ienākumi (Eiro) <sup>a</sup>				
< 250	461 (28,1)	260 (28,3)	201 (27,9)	0,98
250–500	899 (54,9)	503 (54,8)	396 (55,0)	
> 500	278 (17,0)	155 (16,9)	123 (17,1)	
Nodarbinātība				
bezdarbnieks	145 (7,7)	80 (7,7)	65 (7,7)	0,56
nodarbināts	1555 (82,5)	865 (82,9)	690 (82,0)	
pensionārs	100 (5,3)	58 (5,6)	42 (5,0)	
invalids	85 (4,5)	41 (3,9)	44 (5,2)	

\* Atšķirības reķinātas izmantojot  $\chi^2$  testu HP-pozitīvās un HP-negatīvās grupas salīdzināšanai.  
HP – *Helicobacter pylori*. SKI – starpkvartiļu intervāls.

<sup>a</sup> māsaimniecības ienākumi uz vienu māsaimniecības locekli pēc nodokļu nomaksas.

**2. tabula.** Dzīvesveida faktori pētāmā populācijā un pēc seroloģiski noteiktas *H. pylori*

Mainīgie, n (%)		Pētāmā populācija, n = 1885	HP-pozitīvi, n = 1044	HP-negatīvi, n = 841	p vērtība*
Smēķēšana	smēķētājs	398 (21,1)	243 (23,3)	155 (18,5)	<0,01
	bijušais smēķētājs	364 (19,3)	218 (20,9)	146 (17,4)	
	nesmēķētājs	1120 (59,5)	582 (55,8)	538 (64,1)	
Epizodiska pārmērīga alkohola lietošana <sup>a</sup>	nekad	1213 (64,4)	640 (61,3)	573 (68,1)	<0,01
	retāk, kā reizi mēnesī	246 (13,1)	141 (13,5)	105 (12,5)	
	vismaz reizi mēnesī	426 (22,6)	263 (25,2)	163 (19,4)	

Mainīgie, n (%)		Pētāmā populācija, n = 1885	HP-pozitīvi, n = 1044	HP-negatīvi, n = 841	p vērtība*
Kermeņa masas indekss (KMI)	≤ 24,9 kg/m <sup>2</sup>	451 (24,3)	258 (25,0)	193 (23,4)	0,36
	25–29,9 kg/m <sup>2</sup>	724 (39,0)	410 (39,7)	314 (38,1)	
	≥ 30,0 kg/m <sup>2</sup>	683 (36,8)	365 (35,3)	318 (38,5)	
Vismaz 200g piena produktu dienā (pēdējā nedēļā)		1149 (61,0)	660 (63,2)	489 (58,1)	0,03
Vismaz 400g augļu un/vai dārzeņu dienā (pēdējā nedēļā)		1292 (68,5)	691 (66,2)	601 (71,5)	0,01
Ļoti karsti ēdieni un/vai dzērieni (pēdējā nedēļā)		449 (23,8)	273 (26,1)	176 (20,9)	0,01
Asi ēdieni (pēdējā nedēļā)		392 (20,8)	230 (22,0)	162 (19,3)	0,14
Papildus sāls pievienošana ēdienam	nekad	1390 (73,7)	741 (71,0)	649 (77,2)	< 0,01
	dažreiz vai vienmēr	495 (26,3)	303 (29,0)	192 (22,8)	
Marinēti produkti (dienas nedēļā)	≤ 1	326 (17,3)	180 (17,2)	146 (17,4)	0,06
	2–3	416 (22,1)	232 (22,2)	184 (21,9)	
	4–5	1058 (56,1)	573 (54,9)	485 (57,7)	
	6–7	85 (4,5)	59 (5,7)	26 (3,1)	
Gaļas izstrādājumi (dienas nedēļā)	≤ 1	284 (15,1)	159 (15,2)	125 (14,9)	0,05
	2–3	235 (12,5)	119 (11,4)	116 (13,8)	
	4–5	1035 (54,9)	562 (53,8)	473 (56,2)	
	6–7	331 (17,6)	204 (19,5)	127 (15,1)	
Olas (dienas nedēļā)	≤ 1	40 (2,1)	17 (1,6)	23 (2,7)	0,08
	2–3	144 (7,6)	72 (6,9)	72 (8,6)	
	4–5	1363 (72,3)	754 (72,2)	609 (72,4)	
	6–7	338 (17,9)	201 (19,3)	137 (16,3)	

\*Atšķirības rēķinātas izmantojot  $\chi^2$  testu HP-pozitīvās un HP-negatīvās grupas salīdzināšanai.

HP – *Helicobacter pylori*.

<sup>a</sup>epizodiskas pārmērīgas alkohola lietošanas biežums pēdējā gadā – atbilst vismaz 200g stiprā alkohola (sastāvā vismaz 40% etanola) lietošanai vienā reizē.

**3. tabula.** Ar *H. pylori* seropozitivitāti saistītie faktori daudzfaktoru analizē, pielāgojot to vecumam, dzimumam un ienākumiem

Mainīgie	IA	95% TI	p vērtība
Izglītība			
pamatskolas vai zemāka (0–9 gadi)	1,38	0,79–2,41	0,25
vispārējā vidējā (10–12 gadi)	1,17	0,86–1,59	0,30
profesionālā tehniskā	1,20	0,94–1,53	0,14
augstākā izglītība	1,00	–	

Mainīgie	IA	95% TI	p vērtība
Smēķēšana			
smēķētājs	1,34	1,01–1,78	0,04
bijušais smēķētājs	1,38	1,03–1,85	0,03
nesmēķētājs	Ref	–	
Epizodiska pārmērīga alkohola lietošana <sup>a</sup>			
nekad	Ref	–	
retāk, kā reizi mēnesī	1,37	0,99–1,89	0,06
vismaz reizi mēnesī	1,35	1,03–1,78	0,03
Piena produkti vismaz 200g dienā	1,37	1,11–1,69	<0,01
Augļi un/vai dārzeņi vismaz 400g dienā	0,76	0,60–0,96	0,02
Ļoti karsti ēdieni / dzērieni	1,32	1,03–1,69	0,03
Papildus sāls pievienošana ēdienam	1,21	0,95–1,54	0,13
Marinēti produkti			
retāk, kā reizi nedēļā	Ref	–	
2–3 dienas	1,03	0,74–1,43	0,88
4–5 dienas	0,87	0,65–1,16	0,33
6–7 dienas nedēļā	1,58	0,89–2,83	0,12
Gaļas izstrādājumi			
retāk, kā reizi nedēļā	Ref		
2–3 dienas	0,79	0,53–1,16	0,22
4–5 dienas	0,81	0,60–1,09	0,17
6–7 dienas nedēļā	1,05	0,72–1,53	0,79
<i>H. pylori</i> eradikācija (senāk, kā pedējā gada laikā)	0,57	0,39–0,84	0,01
Vairogdziedzera slimības	0,79	0,58–1,08	0,14
Kardiovaskulāras slimības	0,78	0,61–0,99	0,04
Peptiskas čūlas slimība	0,55	0,38–0,80	<0,01
Glomerulonefrīts	0,61	0,36–1,03	0,07

IA – izredžu attiecība, TI – 95% ticamības intervāls, ref – references vērtība.

<sup>a</sup> epizodiskas pārmērīgas alkohola lietošanas biežums pedējā gadā – atbilst vismaz 200g stiprā alkohola (sastāvā vismaz 40% etanola) lietošanai vienā reizē.

**4. tabula.** Daudzfaktoru regresijas modelis kardiovaskulāru slimību anamnēzei un *H. pylori* seropozitivitātei

Mainīgie, n (%)	IA	95% TI	p vērtība
<i>H. pylori</i> seroloģija pozitīva	0,73	0,57–0,94	0,02
Vecums (gados)	1,09	1,07–1,11	< 0,001
Dzimums (vīrieši)	1,00	0,74–1,36	0,98
Izglītības līmenis	0,92	0,46–1,86	0,82
Ienākumu līmenis	0,67	0,45–1,00	0,05
Ķermeņa masas indekss	1,11	1,08–1,13	< 0,01



Mainīgie, n (%)	IA	95% TI	p vērtība
Smēķēšana	1,03	0,73–1,46	0,87
Cukura diabēts anamnēzē	2,84	1,52–5,31	< 0,01
Peptiska čūlas slimība anamnēzē	0,76	0,49–1,19	0,23
Sistoliskais asinsspiediens (mmHg)	1,03	1,02–1,04	< 0,01
Vismaz 400g augļu/dārzenu dienā	1,01	0,78–1,31	0,95
Papildus sāls pievienošana ēdienam	1,32	1,00–1,74	0,05
Vidējas intensitātes fiziska slodze < 150 min dienā	1,31	0,97–1,76	0,08
Alkohola lietošana (etanola g/nedēļā)	1,00	1,00–1,00	0,69

IA – izredžu attiecība, TI – 95% ticamības intervāls, ref – references vērtība.

\* epizodiskas pārmērīgas alkohola lietošanas biežums pēdējā gadā – atbilst vismaz 200g stiprā alkohola (sastāvā vismaz 40% etanola) lietošanai vienā reizē.

**5. tabula.** Sociodemogrāfiskie faktori un *H. pylori* izplatība pētāmā populācijā un pēc seroloģiski noteiktas kuņģa gļotādas atrofijas klātbūtnes

Mainīgie, n (%)	Pētāmā populācija, n = 3001	Seroloģiski noteikta kuņģa atrofija, n = 231 (7,7)	Nav seroloģiskas kuņģa atrofijas, n = 2770 (92,3)	p vērtība*
Dzimums ( <b>vīrieši</b> )	1108 (36,9)	85 (36,8)	1023 (36,9)	0,97
Vidējais vecums gados ± SN	52,1 ± 6,8	54,8 ± 6,5	52,4 ± 6,8	< 0,01**
Izglītība				
pamatskolas vai zemāka (0–9 gadi)	112 (3,7)	9 (3,9)	103 (3,7)	0,41
vispārējā vidējā (10–12 gadi)	502 (16,7)	46 (19,9)	456 (16,5)	
profesionālā tehniskā	1390 (46,3)	109 (47,2)	1281 (46,2)	
augstākā	997 (33,2)	67 (29,0)	930 (33,6)	
Nodarbinātība				
bezdarbnieks	385 (12,8)	34 (14,7)	351 (12,7)	0,11
nodarbinātais	2438 (81,2)	177 (76,6)	2261 (81,6)	
pensionārs	178 (5,9)	20 (8,7)	158 (5,7)	
<i>H. pylori</i> ar elptestu (n=2289)	1167 (51,0)	55 (32,4)	1112 (52,5)	<0,01
<i>H. pylori</i> seroloģiski (n=2089)	1182 (56,6)	72 (48,3)	1110 (57,2)	0,04

\* Atšķirības noteiktas ar  $\chi^2$  testu salīdzinot grupas “seroloģiski noteikta kuņģa gļotādas atrofija” un “nav seroloģiski noteiktas kuņģa gļotādas atrofijas,” ja nav norādīts savādāk.

\*\*Atšķirības noteiktas ar *t-test for Equality of Means* salīdzinot grupas “seroloģiski noteikta kuņģa gļotādas atrofija” un “nav seroloģiski noteiktas kuņģa gļotādas atrofijas.”

HP – *Helicobacter pylori*, SN – standartnovirze.

**6. tabula.** Dzīvesveida paradumi un kuņģa vēzis ģimenes anamnēzē pētāmā populācijā un pēc seroloģiski noteiktas kuņģa gļotādas atrofijas klātbūtnes

Mainīgie, n (%)	Pētāmā populācija, n = 3001	Seroloģiski noteikta kuņģa atrofija, n = 231 (7,7)	Nav seroloģiskas kuņģa atrofijas, n = 2770 (92,3)	p vērtība*
Smēķēšana				
smēķētājs	598 (19,9)	36 (15,6)	562 (20,3)	0,09
bijušais smēķētājs	572 (19,1)	39 (16,9)	533 (19,3)	
nesmēķētājs	1828 (61,0)	156 (67,5)	1672 (60,4)	
Alkohola lietošana (mediāna, etanols g/nedēļā)	12,2 SKI 32,3	12,3 SKI 31,0	12,2 SKI 32,5	0,62**
Kafija				0,01
retāk, kā reizi nedēļā	1391 (60,8)	90 (52,9)	1301 (61,4)	
1–6 reizes nedēļā	344 (15,0)	23 (13,5)	321 (15,1)	
katru dienu	554 (24,2)	57 (33,5)	497 (23,5)	
Marinēti produkti				0,08
retāk, kā reizi nedēļā	1072 (36,3)	82 (35,8)	990 (36,3)	
vienu reizi nedēļā	901 (30,5)	77 (33,6)	824 (30,2)	
2–4 reizes nedēļā	813 (27,5)	65 (28,4)	748 (27,5)	
5–7 reizes nedēļā	167 (5,7)	5 (2,2)	162 (5,9)	
Sīpoli un loki				0,01
retāk, kā reizi nedēļā	175 (7,5)	6 (3,5)	169 (7,8)	
vienu reizi nedēļā	248 (10,7)	22 (12,9)	226 (10,5)	
2–4 reizes nedēļā	863 (37,1)	50 (29,2)	813 (37,7)	
5–7 reizes nedēļā	1039 (44,7)	93 (54,4)	946 (43,9)	
PSI pēdējā mēneša laikā	241 (8,0)	11 (4,8)	230 (8,3)	0,06
<b>Ģimenes anamnēzē kuņģa vēzis (1. un 2. pakāpes radinieki)</b>	341 (11,4)	15 (6,5)	326 (11,8)	0,02

Tabulā uzskaitīti tikai tie ar dzīvesveidu un anamnēzi saistītie faktori, kas tālāk ietverti daudzfaktoru analizē.

\* Atšķirības noteiktas ar  $\chi^2$  testu salīdzinot grupas “seroloģiski noteikta kuņģa gļotādas atrofija” un “nav seroloģiski noteiktas kuņģa gļotādas atrofijas,” ja nav norādīts savādāk.

\*\* Atšķirības noteiktas ar *Mann-Whitney U* testu salīdzinot grupas “seroloģiski noteikta kuņģa gļotādas atrofija” un “nav seroloģiski noteiktas kuņģa gļotādas atrofijas.”

HP – *Helicobacter pylori*, PSI – protona sūkņu inhibitori, SKI – starpkvartīļu intervāls.

7. **tabula.** Daudzfaktoru analīze ar seroloģiski noteiktu kuņģa gļotādas atrofiju saistītiem faktoriem, pielāgojot to dzimumam, smēķēšanai, alkohola lietošanai un ar elptestu noteikta *H. pylori* infekcijai, izslēdzot dalībniekus ar jebkādu *H. pylori* eradikācijas anamnēzi, n = 2120

Mainīgie	IA	95% TI	p vērtība
Dzimums (vīrieši)	1,19	0,81–1,76	0,39
Vecums (gados)	1,05	1,02–1,08	0,001
Nodarbinātība			
bezdarbnieks	ref		
nodarbinātais	0,83	0,52–1,34	0,45
pensionārs	0,89	0,43–1,87	0,76
Izglītības līmenis	0,90	0,73–1,12	0,35
Smēķēšana			
nesmēķētājs	ref		
bijušais smēķētājs	0,57	0,35–0,94	0,03
smēķētājs	0,70	0,43–1,16	0,17
Alkohola patēriņš (g/ nedēļā), uz 10g intervāliem	1,02	1,00–1,04	0,04
Kafija			
retāk, kā reizi nedēļā	ref		
1–6 reizes nedēļā	1,01	0,61–1,67	0,97
katru dienu	1,71	1,17–2,49	0,01
Sīpoli			
retāk, kā reizi nedēļā	ref		
vienu reizi nedēļā	2,72	1,05–7,03	0,04
2–4 reizes nedēļā	1,80	0,74–4,36	0,20
5–7 reizes nedēļā	2,98	1,25–7,09	0,01
Marinēti produkti			
retāk, kā reizi nedēļā	ref		
vienu reizi nedēļā	0,91	0,62–1,36	0,66
2–4 reizes nedēļā	0,74	0,48–1,13	0,17
5–7 reizes nedēļā	0,24	0,07–0,80	0,02
<i>H. pylori</i> infekcija ( <sup>13</sup> C-urea elptests)	0,39	0,28–0,56	<0,01
PSI lietošana (pēdējā mēnesī)	0,48	0,24–0,98	0,04
Kuņģa vēzis <b>ģimenes</b> anamnēzē (1. un 2. pakāpes radnieki)	0,48	0,24–0,98	0,04

IA – izredžu attiecība, 95% TI – 95% ticamības intervāls, PSI – protonu sūkņa inhibitori, ref – references vērtība.

**8. tabula.** Daudzfaktoru analīze ar seroloģiski noteiktu kuņģa gļotādas atrofiju saistītiem faktoriem, pielāgojot to dzimumam, smēķēšanai, alkohola lietošanai un seroloģiski noteiktai *H. pylori*, n = 2089

Mainīgie	IA	95% TI	p vērtība
Dzimums (vīrieši)	1,14	0,76–1,70	0,53
Vecums (gadi)	1,05	1,02–1,08	< 0,01
Nodarbinātība			
bezdarbnieks	ref		
nodarbinātais	0,79	0,48–1,28	0,33
pensionārs	0,67	0,30–1,48	0,32
Izglītības līmenis	1,02	0,82–1,28	0,86
Smēķēšana			
nesmēķētājs	ref		
bijušais smēķētājs	0,61	0,37–1,00	0,05
smēķētājs	0,62	0,37–1,06	0,08
Alkohols (etanola g/ nedēļā), uz 10g intervāliem	1,02	1,00–1,05	0,02
Kafija			
retāk, kā reizi nedēļā	ref		
1–6 reizes nedēļā	0,87	0,51–1,48	0,60
katru dienu	1,60	1,07–2,37	0,02
Sīpoli			
retāk, kā reizi nedēļā	ref		
vienu reizi nedēļā	4,25	1,39–13,00	0,01
2–4 reizes nedēļā	2,58	0,89–7,50	0,08
5–7 reizes nedēļā	4,59	1,59–12,00	0,01
Marinēti produkti			
retāk, kā reizi nedēļā	ref		
vienu reizi nedēļā	0,96	0,65–1,44	0,86
2–4 reizes nedēļā	0,63	0,40–0,99	0,05
5–7 reizes nedēļā	0,19	0,04–0,78	0,02
<i>H. pylori</i> seroloģija pozitīva	0,67	0,48–0,95	0,02
PSI lietošana (pēdējā mēnesī)	0,57	0,29–1,12	0,10
Kuņģa vēzis ģimenes anamnēzē (1. un 2. pakāpes radnieki)	0,46	0,25–0,85	0,01

IA – izredžu attiecība, 95% TI – 95% ticamības intervāls, PSI – protonu sūkņa inhibitori, ref – references vērtība.

9. tabula. Dalībnieku sadale pēc ABCD klasifikācijas ar vidējo vecumu katrā grupā

ABCD grupa	n (%)	Vecums (mediāna gados, SKI)
A. <i>H. pylori</i> negatīvi, nav seroloģiskas atrofijas	738 (38,3)	52,9 (SKI 12,0)
B. <i>H. pylori</i> pozitīvi, nav seroloģiskas atrofijas	1049 (54,5)	52,0 (SKI 12,0)
C. <i>H. pylori</i> pozitīvi, ir seroloģiska atrofija	66 (3,4)	55,0 (SKI 9,0)
D. <i>H. pylori</i> negatīvi, ir seroloģiska atrofija	73 (3,8)	55,0 (SKI 10,5)

HP – *Helicobacter pylori*, SKI – starpkvartīļu intervāls.

10. tabula. Daudzfaktoru regresijas modelis salīdzinot ABCD grupas (n = 1926)

Mainīgie	IA (95% TI), p vērtība		
	HP+, nav seroloģiskas atrofijas (B)	HP+, ir seroloģiska atrofija (C)	HP-, ir seroloģiska atrofija (D)
Vecums	1,00 (0,99–1,02), 0,78	1,06 (1,02–1,11), 0,01	1,04 (1,00–1,09), 0,04
Dzimums (vīrieši)	0,98 (0,78–1,23), 0,86	1,18 (0,65, 2,15), 0,58	1,08 (0,61–1,92), 0,79
Alkohols (g/nedēļā) ar 10 g intervālu	1,01 (0,99–1,03), 0,38	1,04 (1,01–1,06), 0,01	1,02 (0,99–1,05), 0,26
Nodarbinātie iepretim bezdarbniekiem	1,71 (1,03, 2,84), 0,04	0,54 (0,14–2,12), 0,37	1,51 (0,53–4,34), 0,44
Izglītība zemāka iepretim augstākai	1,37 (1,09–1,71), 0,01	0,43 (0,05–3,58), 0,44	2,44 (0,72–8,24), 0,15
Smēķētāji iepretim nesmēķētājiem	1,08 (0,82–1,42), 0,58	0,60 (0,24–1,32), 0,19	0,73 (0,36–1,50), 0,39
Bijušie smēķētāji iepretim nesmēķētājiem	1,19 (0,92–1,55), 0,20	0,91 (0,45–1,82), 0,78	0,41 (0,18–0,94), 0,04
Kafija (katru dienu iepretim retāk kā reizi nedēļā)	0,97 (0,76–1,22), 0,78	2,31 (1,31, 4,09), < 0,01	1,19 (0,66–2,13), 0,57
Marinētie produkti (5–7 dienas iepretim retāk kā reizi nedēļā)	1,54 (0,96–2,46), 0,07	0,50 (0,11–2,25), 0,36	0,69 (0,37–1,30), 0,25
Sīpoli (5–7 dienas iepretim retāk kā reizi nedēļā)	1,24 (0,85–1,80), 0,27	4,65 (0,98–21,93), 0,05	4,62 (1,08–19,81), 0,04*
PSI pēdējā mēneša laikā	0,84 (0,59–1,19), 0,33	0,53 (0,18–1,56), 0,25	0,61 (0,23–1,60), 0,32
Kuņģa vēzis ģimenes anamnēzē	1,02 (0,78, 1,33), 0,91	0,37 (0,13–1,05), 0,06	0,56 (0,26–1,33), 0,20

Grupu salīdzinājums veikts iepretim grupai A (HP negatīvi, nav seroloģiskas atrofijas).

IA – izredžu attiecība, pielāgota visiem faktoriem modelī, 95% TI – ticamības intervāls, HP – *Helicobacter pylori*, PSI – protonu sūkņa inhibitori, ref – references vērtība.

\*salīdzinot 2–4 dienas nedēļā iepretim retāk kā reizi nedēļā

**11. tabula.** Faktoru salīdzinājums starp kļūdaini negatīviem un pareizi pozitīviem pepsinogēnu testa gadījumiem nosakot kuņģa priekšveža stāvokļus

Mainīgie, n (%)	Populācija (n = 1210)	Pareizi pozitīvie (n = 202)	Kļūdaini negatīvie (n = 157)	p vērtība*
Dzimums (vīrieši)	168 (46,8)	79 (39,1)	89 (56,7)	< 0,01
Vecums gados (mediāna, SKI)	52,0 SKI 11,0	56,0 SKI 10,0	55,0 SKI 10,0	0,18**
Ienākumi (eiro)				0,01
< 250	116 (35,6)	54 (29,2)	62 (44,0)	
250–500	164 (50,3)	98 (53,0)	66 (46,8)	
500–1000	43 (13,2)	30 (16,2)	13 (9,2)	
> 1000	3 (0,9)	3 (1,6)	0 (0,0)	
Nodarbinātība				0,97
bezdarbnieki	47 (13,1)	26 (12,9)	21 (13,4)	
nodarbinātie	272 (75,8)	154 (76,2)	118 (75,2)	
pensionāri	40 (11,1)	22 (10,9)	18 (11,5)	
Smēķēšana				< 0,01
nesmēķētāji	208 (57,9)	134 (66,3)	74 (47,1)	
smēķētāji	80 (22,3)	26 (12,9)	54 (34,4)	
bijušie smēķētāji	71 (19,8)	42 (20,8)	29 (18,5)	
Alkohols (g/nedēļā)	11,9 SKI 31,4	10,12 SKI 24,4	12,8 SKI 45,4	0,06**
Vismaz 400g augļu/dārzeņu dienā	194 (54,0)	118 (58,4)	76 (48,4)	0,06
Vismaz 200g piena produktu dienā	208 (57,9)	122 (60,4)	86 (54,8)	0,29
Sīpoli un loki				0,05
ne vairāk, kā reizi nedēļā	40 (12,2)	22 (12,8)	18 (11,6)	
2–4 reizes nedēļā	135 (41,3)	62 (36,0)	73 (47,1)	
5–6 reizes nedēļā	94 (28,7)	60 (34,9)	34 (21,9)	
katru dienu	58 (17,7)	28 (16,3)	30 (19,4)	
Kafija				0,05
ne vairāk, kā reizi nedēļā	49 (13,7)	20 (9,9)	29 (18,6)	
2–6 reizes nedēļā	64 (17,9)	36 (17,8)	28 (17,9)	
katru dienu	245 (68,4)	146 (72,3)	99 (63,5)	
PSI pēdējā mēneša laikā	26 (7,3)	12 (5,9)	14 (9,0)	0,27
HP eradikācija anamnēzē (vairāk kā pirms gada)	24 (6,9)	6 (3,0)	18 (11,9)	< 0,01
HP histoloģiski	205 (57,1)	94 (46,5)	111 (70,7)	< 0,01

\* Atšķirības noteiktas ar  $\chi^2$  testu salīdzinot kļūdaini negatīvo grupu ar pareizi pozitīvo grupu.

\*\* Atšķirības noteiktas izmantojot *Mann-Whitney U* testu.

HP – *Helicobacter pylori*, PSI – protonu sūkņa inhibitori, SKI – starpkvartīļu intervāls.

**12. tabula.** Daudzfaktoru regresijas modelis ar kļūdaini negatīviem gadījumiem saistītiem faktoriem (n = 293)

Mainīgie, n (%)	IA	95% TI	p vērtība
Dzimums (vīrieši)	0,94	0,51–1,74	0,85
Vecums	1,01	0,97–1,05	0,77
Ienākumi (eiro)			
<250	ref		
250-500	0,58	0,33–1,01	0,05
>500	0,57	0,24–1,39	0,22
Smēķēšana			
nesmēķētāji	ref		
smēķētāji	3,22	1,57–6,58	< 0,01
bijušie smēķētāji	1,07	0,51–2,25	0,86
Alkohola lietošana (g/nedēļā)	1,07	1,01–1,14	0,03
Vismaz 400g augļu/dārzeņu dienā	1,03	0,60–1,75	0,93
Sīpoli un loki			
ne vairāk, kā reizi nedēļā	Ref		
2-4 reizes nedēļā	1,62	0,72–3,64	0,24
5-6 reizes nedēļā	0,90	0,38–2,14	0,81
katru dienu	1,43	0,57–3,58	0,45
Kafija			
ne vairāk, kā reizi nedēļā	ref		
2-6 reizes nedēļā	0,65	0,26–1,63	0,36
katru dienu	0,77	0,36–1,67	0,51
Ķermeņa masas indekss	0,99	0,70–1,39	0,93
<i>H. pylori</i> infekcija (histoloģiski apstiprināta)	2,54	1,50–4,28	< 0,01
PSI	1,05	0,40–2,76	0,93

Grupu salīdzinājums veikts iepretim pareizi pozitīviem gadījumiem.

IA – izredžu attiecība, pielāgota visiem faktoriem modeli, TI – ticamības intervāls, PSI – proton sūkņa inhibitoru lietošana pēdējā mēneša laikā, ref – references vērtība.



**UNIVERSITY  
OF LATVIA**

INSTITUTE OF CLINICAL AND PREVENTIVE MEDICINE  
FACULTY OF MEDICINE

**Danute Ražuka-Ebela**

**A POPULATION TAILORED APPROACH TO IMPROVE  
THE PERFORMANCE OF PEPSINOGEN TESTING FOR  
PRECANCEROUS GASTRIC LESIONS**

SUMMARY OF DOCTORAL THESIS

Submitted for the degree of Doctor (Ph.D.) in  
Medicine and Health Sciences  
Field: Clinical Medicine  
Subfield: Internal Medicine

Riga 2023



The doctoral thesis was carried out: at the Institute of Clinical and Preventive Medicine, University of Latvia from 2016 to 2023

Developed with support from:

European Social Fund project “Strengthening of the capacity of doctoral studies at the University of Latvia within the framework of the new doctoral model” Nr. 8.2.2.0/20/1/006.



**UNIVERSITY  
OF LATVIA**

REGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

The thesis consists of a general overview, five chapters, a reference list and three appendices.

Form of the thesis: a collection of research papers in clinical medicine, internal medicine.

Supervisors: *Dr. med.* Professor **Marcis Leja**;  
*Dr. phil.* **Jin Young Park**.

Consultant: *Dr. med.* Associate Professor **Inguna Ebela**.

Reviewers: **Aldis Puķītis**, *Dr. med.* Professor, University of Latvia;  
**Colm O'Morain**, *Dr. med.* Professor, Trinity College (Ireland);  
**Juris Pokrotnieks**, *Dr. med.* Professor, Riga Stradins University.

The thesis will be defended at the public session of the Doctoral Committee of Medicine and Health Sciences at the University of Latvia on June 16th, 2023 14:00 PM (EEST) at the University of Latvia House of Science on Jelgavas iela 3, Riga.

The thesis is available at the Library of the University of Latvia, Raiņa bulvāris 19.

Chairman of the Doctoral Committee \_\_\_\_\_ / Valdis Pīrāgs /  
(signature)

Secretary of the Doctoral Committee \_\_\_\_\_ / Līga Plakane /  
(signature)

© University of Latvia, 2023  
© Danute Ražuka-Ebela, 2023

ISBN 978-9934-36-015-2

ISBN 978-9934-36-016-9 (PDF)

## ANNOTATION

Latvia has a high prevalence of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), as well as conditions associated with the infection – atrophy of the gastric mucosa and stomach cancer. Although up to 89% of non-cardia gastric cancer cases in the world are attributable to *H. pylori*, most people with the infection will not develop gastric cancer during their lifetime. This leaves room for a number of other factors that could play an important role in the development of precancerous gastric lesions. The detection of pepsinogens in serum is the best currently available non-invasive method for assessing the condition of the gastric mucosa. However, studies show that pepsinogens have a moderate diagnostic yield in identifying precancerous gastric lesions with heterogeneous results, which could be due to population specific differences. There are no large scale studies published on whether pepsinogen testing could be adapted and improved based on specific population factors.

Based on the abovementioned circumstances, the aim of the thesis was to develop a population tailored approach to improve serological screening for precancerous gastric lesions by identifying the socioeconomic and lifestyle factors associated with the prevalence of *H. pylori* and gastric atrophy, so identifying risk groups in the population. This would result in clinically applicable findings.

The work was carried out within the “Multicentric randomized study of *H. pylori* eradication and pepsinogen testing for the prevention of gastric cancer mortality – the GISTAR study” in collaboration with representatives from the International Agency for Research on Cancer of the World Health Organization. In Latvia, data on socioeconomic, lifestyle and medical history-related factors were collected from the study participants and they were tested for *H. pylori* infection by <sup>13</sup>C-urea breath test and IgG antibodies, as well as for serum pepsinogen levels. Study participants with decreased serum pepsinogen values indicative of serologic gastric mucosal atrophy (predetermined cut-offs Pgl/PgII ≤ 2 and Pgl ≤ 30 ng/mL) were referred for upper endoscopy with biopsy.

This work includes several stages of research. First, population factors (socioeconomic, lifestyle and medical history-related) associated with *H. pylori* prevalence were identified, followed by the identification of population factors associated with serologically determined gastric atrophy. This included associations which, in contrast to the respective literature, point towards a stronger relationship between *H. pylori* and lifestyle, rather than socioeconomic, factors.

Based on relationships identified in the initial stages, factors were selected and studied in the context of false negative cases in pepsinogen testing (where precancerous gastric lesions were not identified by serum pepsinogen testing).

The risk of false negative pepsinogen test results was significantly increased by *H. pylori* infection, smoking, alcohol consumption and reflux esophagitis.

*H. pylori* infection and smoking were both significantly associated with lower sensitivity of the pepsinogen test. In-depth analysis showed an interaction between the effects of *H. pylori* and smoking on pepsinogen values. By calculating new pepsinogen cut-offs for smokers according to *H. pylori* status, it was possible to improve the sensitivity of the pepsinogen test.

# CONTENTS

ANNOTATION .....	57
GENERAL OVERVIEW .....	61
Importance of the chosen topic and novelty of the work .....	61
Aim .....	62
Objectives .....	62
Hypotheses .....	63
Overview of methods .....	63
Scientific projects related to the work .....	63
Publications .....	64
Presentations at scientific conferences with published abstracts ....	65
Scope and structure of the doctoral thesis .....	65
1. THEORETICAL BACKGROUND .....	66
1.1. <i>Helicobacter pylori</i> and population factors .....	66
1.2. <i>Helicobacter pylori</i> , atrophy of the gastric mucosa and gastric cancer .....	67
1.3. Risk factors for atrophy of the gastric mucosa .....	68
1.4. Evaluation of the status of the gastric mucosa by measuring serum pepsinogens .....	69
1.5. Factors affecting pepsinogen values .....	70
2. MATERIALS AND METHODS .....	72
2.1. Study population .....	72
2.2. Questionnaire .....	72
2.3. Instrumental data .....	73
2.4. Statistical analysis .....	74
3. RESULTS .....	77
3.1. Factors associated with the prevalence of <i>H. pylori</i> .....	77
3.2. Serologically determined atrophy of the gastric mucose and population factors .....	79

3.3. False negative cases in pepsinogen testing and population factors .....	80
3.4. Differences in pepsinogen values and population factors .....	82
4. DISCUSSION .....	86
4.1. Prevalence of <i>Helicobacter pylori</i> and population factors .....	86
4.2. Serological gastric mucosal atrophy and population factors ...	87
4.3. The effect of factors on the accuracy of the pepsinogen test in detecting precancerous gastric lesions .....	88
4.4. Improving the accuracy of the pepsinogen test .....	90
4.5. Advantages and limitations of the study .....	91
5. CONCLUSIONS .....	92
Practical implications of the study .....	92
REFERENCE LIST .....	94
ACKNOWLEDGEMENTS .....	101
APPENDICES .....	102
Appendix 1 .....	102
Presentations at international scientific conferences with published abstracts .....	102
Presentations at international scientific conferences without published abstracts .....	105
Appendix 2 .....	106
The main factors (variables) obtained from the questionnaire and their coding .....	106
Appendix 3 .....	107
Tables .....	107

# GENERAL OVERVIEW

## Importance of the chosen topic and novelty of the work

Population factors could determine whether an individual belongs to a particular risk group, potentially creating longterm inequality in health. The field of preventive medicine is growing in Europe, with an emphasis on population tailored strategies (WHO, 2021). The Council of the European Union recently announced a new approach for cancer screening with an emphasis on early diagnosis, calling for the development of strategies to prevent gastric cancer (European Commission, 2022).

Latvia has a high prevalence of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), as well as conditions associated with the infection – atrophy of the gastric mucosa and gastric cancer (Leja *et al.*, 2017a). Several studies have shown that *H. pylori* infection is associated with gastric atrophy and is considered to be the main risk factor for developing gastric cancer (International Agency for Research on Cancer, 2012). Although up to 89% of non-cardia gastric cancer cases in the world have been scientifically linked to *H. pylori*, most people with the infection will not develop gastric cancer during their lifetime (Plummer *et al.*, 2015, Amieva & Peek, 2016). This circumstance leaves room for the study of other factors that could play an important role in the development of precancerous gastric lesions. More information on socioeconomic, lifestyle and medical history factors related to *H. pylori* infection and the prevalence of gastric atrophy in the population could help develop population-specific strategies for gastric cancer prevention. So far, studies on such population factors have been comparatively smaller, have not simultaneously included such a large number of factors and have mostly been conducted outside of Europe. Factors associated with *H. pylori* and atrophic gastritis vary from population to population, and published data are sometimes contradictory.

The best currently available non-invasive method for assessing the condition of the gastric mucosa is the detection of pepsinogens in the serum (Malfertheiner *et al.*, 2017, Malfertheiner *et al.*, 2022). A low Pg I and Pg I/II ratio indicates possible gastric atrophy and can be used to identify people at increased risk of developing gastric cancer and for whom upper endoscopy may be beneficial (Yamaguchi *et al.*, 2016; Miki 2006). However, two meta-analyses indicate that pepsinogens play a moderate diagnostic role in identifying gastric cancer and precancerous lesions with pronounced heterogeneity between studies, which could be explained both by differences in methodology and in

the characteristics of the studied populations (Huang *et al.*, 2015; Bang *et al.*, 2019). There is also no large scale study on whether the yield of the pepsinogen test in identifying precancerous gastric lesions could be adjusted and improved based on specific population factors.

Based on the abovementioned circumstances, the following aim was set the fulfillment of which could result in a clinically applicable contribution – to develop a population tailored approach to improve the serological screening for gastric precancerous lesions, by identifying population factors associated with the prevalence of *H. pylori* and gastric atrophy. Given that *H. pylori* infection and precancerous gastric lesions (including atrophy) are the main gastric cancer risk factors objectively identifiable in a population, they have been selected as the basis for the investigation in order to identify and select other population-based risk factors in order to fulfill the aim of the study.

The results of this study provide additional and specific information on factors related to *H. pylori* and the prevalence of gastric atrophy in a European population. They also provide new information on the interaction between smoking and *H. pylori* and the resulting effects on the performance of the pepsinogen test in detecting precancerous gastric lesions. Based on the calculations made in this work, it may be possible to improve the efficacy of screening for precancerous gastric lesions by improving the accuracy of the pepsinogen test.

The doctoral thesis was developed at the Institute of Clinical and Preventive Medicine of the University of Latvia in cooperation with representatives of the International Agency for Research on Cancer of the World Health Organization.

## **Aim**

To develop a population tailored approach to improve serological screening for gastric precancerous lesions, by identifying socioeconomic and lifestyle related population factors associated with the prevalence of *H. pylori* and gastric atrophy.

## **Objectives**

1. Identify population factors associated with *H. pylori* prevalence.
2. Identify population factors associated with serologically determined gastric atrophy.
3. Investigate whether the selected factors increase the risk of false negative pepsinogen test results in detecting precancerous gastric lesions.
4. Investigate whether and how the selected factors affect the accuracy of the pepsinogen test in identifying precancerous gastric lesions.

According to these objectives, the work has been divided into four stages.

## Hypotheses

1. Factors characteristic of a population can influence the accuracy of the pepsinogen test in detecting precancerous gastric lesions.
2. The accuracy of the pepsinogen test in detecting gastric precancerous lesions can be improved using a population tailored approach.

## Overview of methods

The work was carried out within “GISTAR – a multicenter randomized study to reduce gastric cancer mortality through *H. pylori* eradication and determination of pepsinogen levels» in collaboration with representatives of the International Agency for Research on Cancer of the World Health Organization. Randomly selected participants from aged 40 to 64 years were administered a questionnaire in GISTAR research centers in Latvia covering sociodemographic factors, lifestyle, dietary and smoking habits, history of disease, medications used and family history of cancer. In the course of this work, the factors included in the analysis are based on a review of the literature.

Within the framework of the GISTAR study, participants were tested for *H. pylori* by C<sup>13</sup>-urea breath test, IgG antibodies (Eiken or Biohit test systems) and pepsinogens I and II in the serum (Eiken, Japan). Participants with pepsinogen values indicative of serological gastric atrophy (predetermined cut-offs Pgl/PgII ≤ 2 and Pgl ≤ 30 ng/mL) were referred for upper endoscopy with biopsies from the stomach.

Socioeconomic, lifestyle and medical history factors were initially analyzed together with *H. pylori* prevalence, followed by the prevalence of serologically determined atrophy of the gastric mucosa. In the next stage of the work, the association of selected factors with histologically proven cases of gastric precancerous conditions not identified by pepsinogen testing (false negative cases) was investigated. The sensitivity and specificity of the pepsinogen test for the detection of precancerous gastric lesions with the predetermined cut-off values was calculated using ROC curves (*receiver operating characteristic curves*) and evaluated with AUC (area under ROC curve) for those factors that were significantly associated with false negative test results in multivariate analysis. In the population groups with significantly lower pepsinogen test sensitivity or specificity, new pepsinogen values were calculated using Jouden's index to determine cut-offs that provide the highest possible sensitivity and specificity of the pepsinogen test in detecting precancerous gastric lesions.

## Scientific projects related to the work

1. European Social Fund project “Strengthening of the capacity of doctoral studies at the University of Latvia within the framework of the new doctoral model,” identification nr. 8.2.2.0/20/I/006. 07.03.2023–06.03.2024.



2. TOGAS: Towards gastric cancer screening implementation in the European Union. 01.03.2023–28.02.2026.
3. EUROHELICAN: Accelerating gastric cancer reduction in Europe through *Helicobacter pylori* eradication. 01.11.2022–30.04.2025.
4. Research in the field of oncology and oncoprevention, including research on biomarkers and microbiome (Research of biomarkers and natural substances for the diagnosis and personalized treatment of acute and chronic diseases). Institute of Clinical and Preventive Medicine, University of Latvia. 12.01.2022–31.10.2022.
5. Multicentric randomized study of *H. pylori* eradication and pepsinogen testing for the prevention of gastric cancer mortality: the GISTAR study. Within the framework of projects of the University of Latvia, the European Social Fund, the Latvian Council of Science and others since 2016.

## Publications

### Scientific articles included in the collection of research papers

1. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Tzivian L, Young Park J, Leja M (2020). Sociodemographic, lifestyle and medical factors associated with *Helicobacter Pylori* infection. *J Gastrointestin Liver Dis* 29(3):319–327.
2. Polaka I, Razuka-Ebela D, Park JY, Leja M (2021). Taxonomy-based data representation for data mining: an example of the magnitude of risk associated with *H. pylori* infection. *BioData Min* 14(1):43.
3. Razuka-Ebela D, Zile I, Tzivian L, Ebela I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M (2020). Does family history of cancer influence undergoing screening and gastrointestinal investigations? *J Gastrointestin Liver Dis* 29(4):523–528.
4. Razuka-Ebela D, Polaka I, Daugule I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Rudzite D, Vangravs R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2022). Lifestyle and dietary factors associated with serologically detected gastric atrophy in a Caucasian population in the GISTAR study. *Eur J Cancer Prev* 31(5):442–450.
5. Razuka-Ebela D, Polaka I, Daugule I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Rudzite D, Vangravs R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2022). Factors associated with false negative results in serum pepsinogen testing for precancerous gastric lesions in a European population in the GISTAR study. *Diagnostics* 12(5):1166.
6. Leja M, Cine E, Polaka I, Daugule I, Murillo R, Parshutin S, Rauk-Ebela D, Rotberg L, Anarkulova L, Cricket P, Shantare D, Tzivian L, Herrero R, Park JY (2022). Factors influencing participation in preventive interventions for gastric cancer: the results from the GISTAR study. *Eur J Cancer Prev* 31(2):128–136.

7. Razuka-Ebela D, Giupponi B, Franceschi F (2018). *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Helicobacter* 23(Suppl 1):e12520.
8. Robles C, Rudzite D, Polaka I, Sjomina O, Tzivian L, Kikuste I, Tolmanis I, Hawk A, Isaev S, Liepniece-Karele I, Razuka-Ebela D, Parshutin S, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M (2022). Assessment of serum pepsinogens with and without co-testing with gastrin-17 in gastric cancer risk assessment – results from the GISTAR pilot study. *Diagnostics (Basel)* 12(7):1746.

#### **Other scientific articles**

9. Park JY, Polaka I, Parshutin S, Kikuste I, Isajevs S, Santare D, Rudzite D, Vanags A, Liepniece-Karele I, Kirsners A, Atstupens J, Daugule I, Ražuka-Ebela D, Downham L, Murillo R, Herrero R, Leja M (2019). Trial profile: pilot study of the multicentre randomised trial of *H. pylori* eradication and pepsinogen testing for prevention of gastric cancer mortality (the GISTAR pilot study). *Microb Health Dis* 1:e165.

#### **Presentations at scientific conferences with published abstracts**

List can be found in Appendix 1 (27 reports at scientific conferences, 25 of them with published abstracts).

#### **Scope and structure of the doctoral thesis**

The thesis consists of a summary of the thesis (general overview of the thesis, five chapters, a reference list and three appendixes) and a set of publications (eight articles).

# 1. THEORETICAL BACKGROUND

## 1.1. *Helicobacter pylori* and population factors

*H. pylori* affects an average of 50% of the world's population, but its prevalence can vary significantly between different populations and communities. As an example, in Canada the prevalence of infection is 37.9%, while in Portugal it is 84.2% (Eusebi, 2014). In a study published in 2012 the reported prevalence of *H. pylori* in Latvia was 79%, while in 2020 the estimated prevalence was 60% (Leja *et al.*, 2012; Leja & Dumpis, 2020).

*H. pylori* is transmitted directly from person to person (orally, with gastric secretions, faeces, during breast feeding or iatrogenically) (Zaman *et al.*, 2019), and possibly with infected water in endemic regions (Bellack *et al.*, 2006). *H. pylori* prevalence is usually higher in developing countries and is associated with lower socio-economic status and low income (Lim *et al.*, 2013; Eusebi *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014). In several studies involving both adults and children *H. pylori* infection was associated with lower socioeconomic status, including overcrowding and poorer sanitation, especially in low- and middle-income countries (Chi *et al.*, 2009; Rome *et al.*, 2009). In some studies *H. pylori* prevalence was also associated with lower levels of education (EUROGAST 1993; Nouraie *et al.*, 2009).

However, the relationships observed between *H. pylori* infection and other factors tend to vary significantly between populations and data are sometimes contradictory. High salt intake facilitates the colonization of the gastric mucosa with *H. pylori*, inflammatory processes, and accelerates carcinogenesis (Haley & Gaddy, 2016; Holubiuk & Imiela, 2016). A positive correlation was found between urinary sodium excretion and *H. pylori* infection in EUROGAST and INTERSALT study populations (Beevers, 2004). Some cross-sectional studies have found an association between insufficient vegetable and fruit intake and *H. pylori* prevalence (Jarosz *et al.*, 2009; Mard *et al.*, 2014). However, there are also studies that have found no such relationship (Mhaskar *et al.*, 2013; Monno *et al.*, 2019). A diet rich in vegetables and fruit is considered to be protective against stomach cancer and the negative effects of *H. pylori* infection. The protective effect of fruit and vegetables is explained by the presence of carotenoids, folate and vitamin C (Bertuccio *et al.*, 2013; Haley & Gaddy, 2016).

Although some studies have reported different relationships between *H. pylori*, smoking and alcohol consumption (Ogihara *et al.*, 2000; Zhang *et al.* 2010; Ozaydin *et al.* 2013), no convincing associations were reported in most (Eusebi *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014). In a meta-analysis higher alcohol consumption was associated with a lower *H. pylori* prevalence (Liu *et al.*, 2016). The authors explained this by the antibacterial and gastric acid secretion

promoting properties of alcohol. However, there are also several studies which found no relationship between alcohol consumption and *H. pylori* infection, and one study where higher alcohol consumption was associated with higher *H. pylori* prevalence (Zhang *et al.*, 2010).

Several studies point to possible positive associations between *H. pylori* and a number of diseases outside the gastrointestinal tract, such as coronary heart disease, stroke, metabolic syndrome, diabetes mellitus and autoimmune thyroid disease, but a negative association with bronchial asthma (Goni & Franceschi, 2016; Chen *et al.*, 2017; Razuka-Ebela *et al.*, 2018). Particular attention has been given to a possible relationship between *H. pylori* infection and coronary heart disease and an increased risk of myocardial infarction, however, there is no conclusive data on causal relationships (Yu *et al.* 2017; Rahmani *et al.* 2017).

There is a lack of studies investigating potential associations between multiple factors and *H. pylori* prevalence in European populations especially in central and eastern Europe, where *H. pylori* prevalence remains high despite the fact that these countries are currently classified as high income (International Agency for Research on Cancer, 2012; Robert *et al.*, 2016). One such example is Latvia, where there is a high prevalence of *H. pylori*, gastric atrophy and gastric cancer (Leja *et al.*, 2017a).

## **1.2. *Helicobacter pylori*, atrophy of the gastric mucosa and gastric cancer**

*H. pylori* infection is associated with the atrophy of gastric mucosa and peptic ulcer disease, and is considered a major risk factor for gastric cancer (International Agency for Research on Cancer, 2012). The International Agency for Research on Cancer (2012) has classified *H. pylori* as a group one carcinogen.

The main outcomes of *H. pylori* infection and the development of precancerous gastric lesions are demonstrated in Correa's cascade, which depicts the successive changes in the gastric mucosa step by step:

- normal gastric mucosa → non-atrophic gastritis (previously: superficial gastritis)
- multifocal atrophic gastritis without intestinal metaplasia
- intestinal metaplasia of the complete (small intestine) type
- intestinal metaplasia of the incomplete (colonic) type
- low-grade dysplasia (low grade non-invasive intraepithelial neoplasia)
- high-grade dysplasia (high grade non-invasive intraepithelial neoplasia)
- invasive adenocarcinoma (Correa & Piazuelo, 2012).

*H. pylori* infection is the most common cause of gastritis. Initially, gastritis is not atrophic, since the gastric mucosa has a preserved glandular structure. The subsequent course of non-atrophic gastritis is determined by three conditions – characteristics of *H. pylori*, genetic predisposition and environmental factors. If *H. pylori* is eradicated, non-atrophic gastritis may

disappear. If *H. pylori* is not eradicated gastritis can remain non-atrophic or progress, resulting in the chronic damage of the mucosal glands and even their destruction. Infection with the *H. pylori* cag-positive vacA s1m1 strain is associated with precancerous lesions and gastric cancer, while persisting non-atrophic gastritis with the cag-negative vacA s2m2 strain does not increase the risk of gastric cancer (Uemura *et al.*, 2001; Correa & Piazuelo, 2012).

The disappearance of normal glands in the gastric mucosa is the first sign of the precancerous cascade. This usually occurs after prolonged inflammation and multifocal atrophic gastritis develops in several foci. As atrophy progresses, intestinal metaplasia develops. Based on morphology intestinal metaplasia is classified into two types: complete (small intestine) type and incomplete (colonic) type. The gastric mucosa is replaced by a metaplastic mucous membrane characteristic of the thin intestine, with cells expressing digestive enzymes (complete type). When metaplastic changes have covered larger areas of the mucous membrane, changes characteristic of the mucous membrane of the colon appear in places, and so the expression of digestive enzymes partially or completely disappears (incomplete type). In biopsies, foci of both complete and incomplete metaplasia are often found. When staining with HID-AB (*High Iron Diamine-Alcian Blue*) intestinal metaplasia can further be divided into complete type I, incomplete type II and incomplete type III intestinal metaplasia (Filipe *et al.*, 1994). The presence of incomplete metaplasia and its higher proportion compared to that of complete metaplasia in biopsy samples indicates a higher risk of gastric cancer. The distribution of atrophy and metaplasia in the stomach also determines the risk of gastric cancer (Correa & Piazuelo, 2012; Pimentel-Nunes *et al.*, 2019).

The condition of the gastric mucosa is morphologically evaluated using the updated Sydney system (Dixon *et al.*, 1996). Based on histology findings, it is possible to classify individuals by gastric cancer risk using OLGA (*operative link for gastritis assessment*) and OLGIM (*operative link for gastric intestinal metaplasia assessment*) systems (Rugge *et al.*, 2013). The relevance of the characteristics of gastric mucosal changes and their location to precancerous gastric lesions is described in the MAPS II guideline (Pimentel-Nunes *et al.*, 2019).

### 1.3. Risk factors for atrophy of the gastric mucosa

Although up to 89% of non-cardia gastric cancer cases in the world are associated with *H. pylori* and infected individuals have an up to six times higher chance of developing gastric cancer, most people with this infection will not develop gastric cancer during their lifetime (Mbulaiteye *et al.*, 2009; Amieva and Peek, 2016). This circumstance leaves room for a number of other factors that could play an important role in the development of precancerous gastric lesions.

It is known that the prevalence of gastric atrophy increases with age and is associated with *H. pylori* infection (Weck & Brenner, 2008). Significantly fewer

studies have been published on the risk factors of atrophic gastritis than those of gastric cancer. The method of determining gastric mucosal atrophy also varies – in some studies atrophic gastritis was determined by histology, while in others by serology. Most of the more recent and larger studies published on gastric atrophy and its factors were conducted in Asian populations. It is expected that risk factors there could differ from those of Western countries based on different genetic characteristics of the populations, *H. pylori* prevalence, as well as environmental and behavioral factors (Wirth & Yang, 2016).

Diets high in salt, nitrates and salt-containing products, but low in vegetables and fruits have been linked to gastric atrophy (Wirth & Yang, 2016; Haley & Gaddy, 2016; Song *et al.*, 2017a). Higher consumption of vegetables and fruit has been linked to lower prevalence of chronic atrophic gastritis in several populations, likely due to the protective effects of vitamin C, carotenoids and folate (Bertuccio *et al.*, 2013; Haley & Gaddy, 2016). Higher consumption of dietary fiber has also been associated with a lower risk of gastric cancer (Zhang *et al.*, 2013). On the other hand, vegetables high in starch have been linked to higher risk of chronic atrophic gastritis, which could be explained by differences in the way that these vegetables are prepared (Kato *et al.*, 2004). More frequent intake of red, smoked and salted meat, as well as meat products, has also been linked to a higher risk of gastric cancer (Kim *et al.*, 2019).

In two studies, milk consumption was associated with a higher risk of chronic atrophic gastritis and intestinal metaplasia (Fontham *et al.*, 1986; Kato *et al.*, 2004). In a meta-analysis, more frequent consumption of dairy products not including milk was associated with a lower risk of gastric cancer in Western countries, but no association was found for milk specifically (Guo *et al.*, 2015).

Multiple studies have reported smoking as a risk factor in the development of gastric cancer (Gonzalez *et al.*, 2003). Among smokers, the risk of gastric cancer is higher in men than in women (Ladeiras-Lopes *et al.*, 2008). As for atrophic gastritis and smoking, published data differ. Two prospective studies found no relationship between atrophic gastritis and smoking (Eurohepygast, 2002; Adamu *et al.*, 2011), but some cross-sectional studies found a negative relationship between smoking and Pg I/II ratio (Mansour-Ghanaei *et al.*, 2019). A study in Asia reported a correlation between smoking and more advanced stages of gastric atrophy (Nakamura *et al.*, 2002), while in Scandinavia smoking reduced inflammation and atrophy in the gastric corpus in *H. pylori* positive participants (Koivisto *et al.*, 2008).

#### **1.4. Evaluation of the status of the gastric mucosa by measuring serum pepsinogens**

Pepsinogen is an inactive form of the enzyme pepsin. In the acidic environment of the stomach, pepsinogen is converted into active pepsin after the cleavage of an inhibitor peptide. Pepsin is a protease that ensures the breaking

down of proteins during digestion. There are seven pepsinogens, which are divided into two groups – pepsinogen I and pepsinogen II (Pg I and Pg II). In the corpus and fundus of the stomach, the chief cells of the oxyntic glands secrete mainly Pg I and some Pg II. However, Pg II is also secreted by the pyloric glands in the antrum, the mucosa in the cardia and around the gastroesophageal junction, as well as cells in Brunner's glands in the duodenum (Hirschowitz, 1984; Westerveld *et al.*, 1987). Pepsinogens enter the blood in small amounts and can be detected in the serum.

Gastric mucosal atrophy is well reflected by Pg I. Its level decreases along with the destruction of oxyntic glands. The secretion of pepsinogen II is stimulated by *H. pylori* induced inflammation as the proliferation of both hyperplastic and neoplastic cells (Correa & Piazzuelo, 2012). Decreased Pg I and Pg I/II ratio can be observed with atrophic gastritis, pernicious anemia, intestinal metaplasia, dysplasia, and gastric cancer (Westerveld *et al.*, 1987).

The detection of pepsinogens in serum is the best currently available non-invasive method for studying the morphological and functional state of the gastric mucosa (Malferteiner *et al.*, 2017, Malferteiner *et al.*, 2022). Decreased Pg I and Pg I/II ratio indicate possible gastric atrophy and can be used to identify individuals at increased risk of developing gastric cancer who could benefit from an upper endoscopy (Miki 2006; Yamaguchi *et al.*, 2016).

## 1.5. Factors affecting pepsinogen values

The sensitivity and specificity of the serum pepsinogen test in the detection of precancerous gastric lesions have shown varying results among studies. Two meta-analyses indicate that pepsinogens have a moderate diagnostic role in detecting gastric cancer and precancerous lesions with pronounced heterogeneity between studies, which could be explained by differences in methodology and by the characteristics of the populations studied (Huang *et al.*, 2015; Bang *et al.*, 2019).

Pepsinogen levels may increase with more severe inflammation or gastritis (Tong *et al.*, 2017). As a result of prolonged smoking, gastric secretion increases (Parente *et al.*, 1985). Smoking can lead to increased release of pepsinogens, in particular Pg I (Sakamoto, 2010). Tatemichi *et al.* (2001) reported that *H. pylori* seronegative smokers had higher average Pg I levels than never smokers. Differences in Pg II and Pg I/II were not associated with *H. pylori* IgG antibody titers. In a study in China, Pg I values were significantly higher and Pg II values even doubled in asymptomatic study participants infected with *H. pylori* infection compared to those not infected (Yu *et al.*, 2021). As a result, *H. pylori* positive participants had a significantly lower Pg I/II ratio than *H. pylori* negative participants.

Data on higher values of Pg I and Pg II in men than in women have also been published (Pals *et al.*, 1985; Hokkanen *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2007; Huang

*et al.*, 2016; Yu *et al.*, 2021). The Pg I/II ratio was higher in men than in women in several studies conducted in China (Sun *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2016), however, in one it was larger in women (Yu *et al.*, 2021).

Studies have shown that levels of Pg I and Pg II gradually increase with age (Yu *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2016), but the Pg I/II ratio rapidly decreases with age (Sun *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2021). Sun *et al.* (2007) reported that the decrease in Pg I/II was associated with a decrease in Pg I levels in participants over the age of 61. Data from studies conducted in European populations had more varied reports: in the Netherlands, Pg I and Pg II also increased with increasing age (Veenendaal *et al.*, 1992), while in another population Pg I and Pg I/II ratio decreased with older age in *H. pylori* positive participants (Kuipers *et al.*, 1996).

In China, Yu *et al.* (2021) observed that overweight participants (body mass index above 28kg/m<sup>2</sup>) Pg I and Pg II were lower, while Pg I/II was higher, compared to participants with a lower body mass index (BMI). In Japan, Kutsuma *et al.* (2014) observed that both decreased and increased BMI was associated with lower Pg I and Pg I/II ratio. In another study in China, the average values of pepsinogen differed between regions and the authors explained this by differences in nationality and dietary habits (Tong *et al.*, 2021).



## 2. MATERIALS AND METHODS

### 2.1. Study population

The work was carried out within “Multicentric randomized study of *H. pylori* eradication and pepsinogen testing for the prevention of gastric cancer mortality: the GISTAR study.” Starting in 2013, individuals aged 40 to 64 years were randomly selected in several consecutive regional research centers in Latvia (Cēsis, Aluksne, Ludza, Saldus, Tukums, Dobele, Rēzekne, Madona and Jēkabpils). Since 2016, the author of the work has been involved in the GISTAR study, performing various GISTAR research tasks, including work in research centers, development of the research questionnaire, analysis and interpretation of the obtained data. During the course of the thesis work, by spring 2022, a total of 3000 participants have been gradually included in its stages, as the number of participants in the GISTAR study continues to grow.

Participants were invited to participate in the study through a registry available to general practitioners (GPs) in the areas of the study centers via phone call or mail. Participants were evaluated by medical personnel prior to the start of the study. Participants were not included in the study if they had a history of gastric cancer, gastric resection due to benign disease, underwent *H. pylori* eradication in the past year, were psychologically or cognitively impaired to the point where it may affect the accuracy of data provided during the study, or were in need of immediate investigation and treatment due to gastrointestinal or other diseases.

All participants signed informed consent forms at the time of inclusion in the GISTAR study and the GISTAR study protocol has been approved by the Latvian Central Medical Ethics Committee (01–29.1/11) and the Ethics Committee of the International Agency for Research on Cancer (IEC 12–36). The research protocol is registered in the clinicaltrials.gov database (NCT02047994). The tasks performed within this work correspond to the approved GISTAR protocol and informed consent provided by all of its participants.

### 2.2. Questionnaire

All participants were interviewed by an employee of the research center and filled out a detailed questionnaire. The questionnaire included data on sociodemographic factors, lifestyle (physical activity, diet, smoking, alcohol consumption), medical history (drugs used, history of disease, *H. pylori* eradication more than one year ago), and a family history of cancer. Height

and weight of participants were measured, and body mass index (kg/m<sup>2</sup>) was calculated. A detailed list of factors (variables) included in the analysis and their coding can be found in Annex 2.

In the course of this work, a qualitative review of the GISTAR questionnaire has been carried out several times with adjustments and additions made in order to improve the accuracy of the obtained data, their use in various types of analysis, as well as the possibility to match the data with that of other studies and countries.

### 2.3. Instrumental data

The division of participants into control and intervention groups and the investigations carried out during the course of the GISTAR study determine the number of participants included in each stage of this work. To create a better understanding, it is necessary to introduce the design of the GISTAR study. A full description of the GISTAR study can be found elsewhere (Leja *et al.*, 2017a). The GISTAR study is divided into the pilot study and the main study (2013 to 2015 and 2015 to 2023, respectively). This work includes participants from both the pilot study and the main study.

As part of the GISTAR protocol, participants were randomized into two groups – control and intervention groups. In the intervention group *H. pylori* IgG antibodies were measured using ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*), using the Finnish Biohit system for the pilot study and the Japanese Eiken system for the main study. *H. pylori* was also determined for most participants with <sup>13</sup>C-urea breath test.

Pepsinogens I and II were also measured in the intervention group with the latex-agglutination test system (Eiken Chemical, Japan). According to the previously established cut-off values for serological gastric atrophy and, consequently, the increased risk of gastric precancerous lesions, participants with Pgl/Pg II ≤ 2 and PGI ≤ 30 ng/mL were referred for upper endoscopy with biopsies taken from the stomach (Leja *et al.*, 2017b). As part of the pilot study, endoscopies were also performed in an additional control group – for participants who did not have decreased pepsinogens. The size of this group was around half of that of the participant group with decreased pepsinogens.

Gastric biopsy samples were evaluated by two independent pathologists according to the updated Sydney system and OLGA and OLGIM stages (Dixon *et al.*, 1996; Rugge *et al.*, 2013). Biopsies with intestinal metaplasia were additionally stained with HID-AB (*High Iron Diamine-Alcian Blue*) and classified by type – complete type I, incomplete type II and incomplete type III intestinal metaplasia (Filipe *et al.*, 1994).

The stages of this work use a number of designations for groups investigated, which have been defined in Table 1.

**Table 1.** Designations and definitions of the groups studied

Designation	Definition
<i>H. pylori</i> infection	Depending on the stage of work, was determined by <sup>13</sup> C-urea breath test, <i>H. pylori</i> IgG antibodies in serum or gastric biopsy with histology ( <i>Giemsa</i> stain)
Serological atrophy of the gastric mucosa	Serological atrophy of the gastric mucosa according to previously established cut-offs, where PgI/PgII ≤ 2 and PgI ≤ 30 ng/mL in the serum
Precancerous gastric lesions	Intestinal metaplasia, atrophy or dysplasia associated with an increased risk of gastric cancer as defined in the MAPS II guidelines (Pimentel-Nunes <i>et al.</i> , 2019)
True positive cases	Precancerous gastric lesion confirmed by histology and serological atrophy of the gastric mucosa (decreased serum Pg values, where PgI/PgII ≤ 2 and PgI ≤ 30 ng/mL).
False negative cases	Precancerous gastric lesion confirmed by histology, but no serological atrophy of the gastric mucosa (serum Pg values are not decreased or are unchanged, cut-off is not met).

## 2.4. Statistical analysis

Descriptive and analytical methods were used for data analysis and univariate and multivariate analyses were performed. To assess potential differences between the groups studied, *Pearson Chi-square* and *Mann Whitney U* tests were used for descriptive statistics depending on the distribution of data. For variables measured on a scale, arithmetic means with standard deviations (SD) are shown if the distribution was normal, while median values with interquartile ranges (IQR) are shown if the distribution was not normal. Based on a review of the literature and hypotheses, it was necessary to include a large number of factors in univariate analysis. The number of participants included in each stage of the work gradually increased, which is why the number of participants included in the analysis at each stage is not identical.

As per the objectives of the thesis, data analysis was divided into several subsequent stages:

1. Analysis of population factors in relation to *H. pylori* prevalence in Latvia.
2. Analysis of population factors in relation to the prevalence of serologically detected gastric mucosal atrophy, adjusting for the presence of *H. pylori* infection.
3. Analysis of population factors in relation to histologically confirmed false negative cases of the pepsinogen test in detecting precancerous gastric lesions.
4. Analysis of the effect of selected factors on Pg values (Pg I, Pg II, and Pg I/II ratio) in order to develop a more detailed understanding of the nature of

the associations found and to identify possible interactions between different factors.

5. Analysis of the effect of selected factors on the sensitivity and specificity of the pepsinogen test in detecting precancerous gastric lesions.
6. Based on the selected factors, the calculation of new cut-off values to improve the accuracy of the pepsinogen test.

For the outcomes studied (*H. pylori* infection, serological gastric atrophy, false negative cases) multivariate logarithmic regression models were created. Variables with  $p < 0.10$  in initial univariate analysis were included in multivariate regressions (multivariate analysis). For each factor in the regressions, odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were calculated. In multivariate analysis, variables with  $p < 0.05$  were considered to be statistically significant.

In multivariate analysis for *H. pylori* infection the factors age, gender and income were included additionally, as they had been associated with *H. pylori* prevalence in other studies (Eusebi *et al.*, 2014). In the main model for *H. pylori*, the results of the <sup>13</sup>C-urea breath test are used. A separate model was created using *H. pylori* serology instead of the breath test, allowing for the possibility that the manner of *H. pylori* testing could affect the associations found. A detailed description of the statistical methods applied can be found in the respective published article (Razuka-Ebela *et al.*, 2020).

According to the principles described previously, a logarithmic regression model was also created for serological gastric atrophy, additionally adjusting for sex, smoking and alcohol consumption, as they had been associated with reduced pepsinogen levels or atrophy in other studies (Liu *et al.*, 2016; Tatemichi *et al.*, 2001; Kikuchi *et al.*, 2002; Song *et al.*, 2017b). The model also included employment status and education level as sociodemographic factors, since socio-economic level has been linked to *H. pylori* prevalence in multiple studies and can affect lifestyle and other habits (Eusebi *et al.*, 2014; Wang & Geng, 2019).

Detailed supplementary analyses were conducted in order to identify confounding factors and to test the strength of the associations found. For example, participants were grouped according to the ABC gastric cancer risk classification, so accounting for all the possible combinations of gastric atrophy and *H. pylori* status as joint outcomes (Yamaguchi *et al.*, 2016). A detailed description of supplementary analyses can be found in the respective published article (Razuka-Ebela *et al.*, 2022a).

The factors identified in previous stages of the work were then compared between false negative cases of pepsinogen testing (precancerous lesion confirmed histologically, but pepsinogen values unchanged) and true positive cases (precancerous lesions confirmed histologically and pepsinogen values decreased below cut-offs) using the statistical methods described previously. A logarithmic regression model was created for false negative cases, including factors that were significantly associated with false negatives in both univariate

and bivariate analysis, also including histologically confirmed *H. pylori* infection. The model was additionally adjusted for age and income level. A detailed description and justification of the statistical methods used can be found in the respective published article (Razuka-Ebela *et al.*, 2022b).

In addition, the median values of Pg I, Pg II and Pg I/II ratio were investigated, comparing them by *H. pylori* status, smoking habits, sex, age and a number of other factors in order to gain a better understanding of the relationships identified in multivariate analysis. These comparisons were repeated by grouping the participants according to whether they had histologically confirmed precancerous gastric lesions or not.

Factors that were significantly associated with false negative cases in pepsinogen testing became the basis for further study. Participants were divided into groups according to smoking habits and *H. pylori* status. Using predetermined pepsinogen cut-offs ( $\text{PgI/PgII} \leq 2$  and  $\text{PgI} \leq 30$  ng/mL) ROC curves were calculated for Pg I/II ratio and Pg I values, using the results of the regression curves of these factors and estimating the area under the ROC curve (AUC). Additional calculations are also made adjusting for sex and age.

In the groups where sensitivity or specificity was below 65%, new pepsinogen thresholds were calculated using Jouden's J index to determine new cut-offs that would provide the highest possible sensitivity and specificity for the detection of precancerous gastric lesions. Statistical analysis was conducted in SPSS version 21 (IBM Corp., 2012) and *Microsoft Excel* (2010, 2021).

### 3. RESULTS

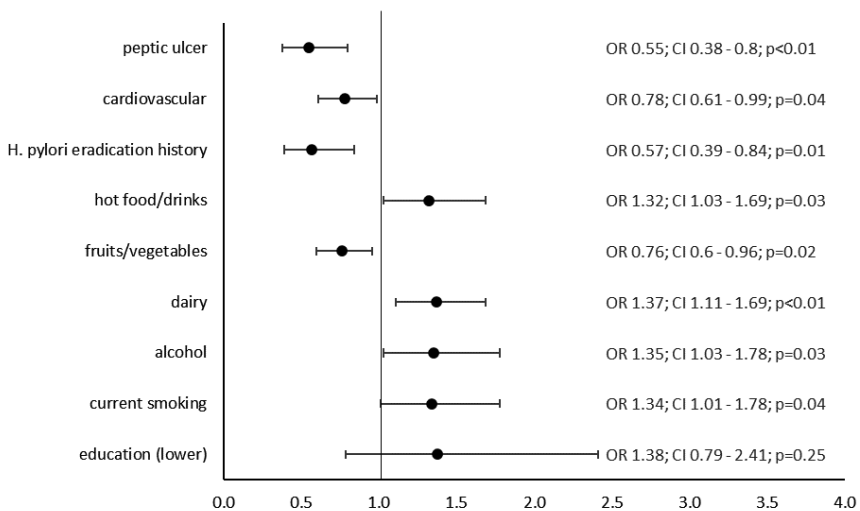
A detailed summary of the results can be found in tables in the Appendix as well as in the published articles attached.

#### 3.1. Factors associated with the prevalence of *H. pylori*

At this stage, 1885 participants were included in the analysis with *H. pylori* ELISA IgG antibodies (Eiken, Japan) measured between March 2016 and December 2018. The median age of participants was 52 years (IQR 12 years) and 62.3% were female. Of the participants, 1044 (55.4%) were seropositive for *H. pylori*. The highest proportion of seropositive participants was in the lowest education group (65% positive versus 35% negative), with the smallest in the higher education group (51% positive versus 49% negative) (Appendix 3, Table 1).

*H. pylori* prevalence was higher among smokers and former smokers, as well as binge-like drinkers. *H. pylori* was more likely to be seropositive for participants who consumed at least 200g of dairy products daily, used very hot foods or drinks, added extra salt to their food, and used pickled products more frequently (Appendix 3, Table 2). When including medical history, it was found that participants with a history of *H. pylori* eradication more than one year ago, peptic ulcer disease, cardiovascular, as well as thyroid disease, were more likely to be *H. pylori* seropositive (Razuka-Ebela *et al.*, 2020, Table 3).

Factors that were significantly associated with *H. pylori* seropositivity in univariate analysis were included in a multivariate logarithmic regression model, adjusting for age, sex, and income level. In a multivariate analysis, *H. pylori* seropositivity was significantly associated with smoking, binge-like drinking, consumption of at least 200g of dairy daily, as well as using very hot foods or drinks. *H. pylori* seropositivity was inversely associated with the consumption of at least 400g of fruit and vegetables daily, *H. pylori* eradication more than one year ago, a history of peptic ulcer disease and cardiovascular disease (Figure 1; Appendix 3, Table 3).



**Figure 1.** Multivariable regression model for factors associated with *H. pylori* seropositivity. OR – odds ratio, CI – 95% confidence interval, p-value. The model includes the following factors: level of education, smoking, binge drinking,  $\geq 200$ g dairy daily,  $\geq 400$ g of fruits and vegetables daily, consumption of very hot foods or drinks, pickled and meat products, addition of extra salt to food, history of *H. pylori* eradication (more than a year ago), peptic ulcer, and cardiovascular and thyroid disease. The model is adjusted for age, sex and income level.

Supplementary analysis was carried out to find possible confounding factors and to test the strength of the associations found in multivariate analysis. In univariate analysis, there was a statistically significant association between *H. pylori* seropositivity and level of education, which disappeared in multivariate analysis. Therefore, supplementary analysis was carried out taking into account other factors that could influence the relationship between education and *H. pylori* (Razuka-Ebela *et al.*, 2020, table S1). After in-depth supplementary analyses, a close relationship remained between the consumption of dairy products and *H. pylori* prevalence and no confounding factors were found (Razuka-Ebela *et al.*, 2020, table S2).

Given the unforeseen inverse association found between a history of cardiovascular disease and *H. pylori* seropositivity, supplementary analysis was done, taking into account that risk factors for cardiovascular disease and *H. pylori* infection might overlap (Razuka-Ebela *et al.*, 2020, Table S4). A multivariate regression model was created for a history of cardiovascular disease and *H. pylori* seropositivity. After adjusting the model for several other factors, the association between the two only strengthened and no convincing confounding factors were identified (Appendix 3, Table 4). Additional analysis was also performed taking

into account the possibility of false reports of a history of *H. pylori* eradication (Razuka-Ebela *et al.*, 2020, table S3).

### **3.2. Serologically determined atrophy of the gastric mucose and population factors**

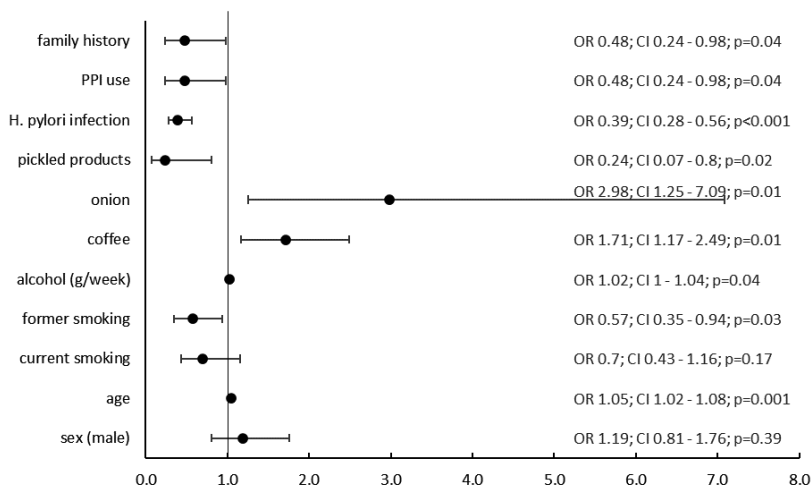
In the second stage of the work, 3001 participants were included in the analysis. The mean age of the participants was  $52.1 \pm \text{SD } 6.8$  years, 36.9% were male. Serologically determined gastric atrophy was present in 231 (7.7%). Of these participants, 2288 took the  $^{13}\text{C}$ -urea breath test for *H. pylori* and 1167 (51.0%) were positive. Of these, 2089 were also tested for *H. pylori* IgG antibodies and 1182 (56.6%) were seropositive. A detailed description of the population studied and the main results of univariate analysis can be found in Tables 5 and 6 of Appendix 3.

Based on the statistically significant associations found between serological atrophy and population factors in univariate analysis, the following factors were included in multivariate analysis: age, smoking, consumption of pickled products, onions and coffee, family history of gastric cancer, use of proton pump inhibitors, and *H. pylori* infection, additionally adjusting for sex, employment status, level of education and alcohol consumption. Multivariate analysis was carried out separately for both methods of testing for *H. pylori* (breath test and serology) (Tables 7 and 8 in Appendix 3).

In multivariate analysis, using the breath test to determine *H. pylori* status, serologically determined gastric mucosal atrophy was associated with age, consumption of alcohol, coffee and onions (Figure 2). Serologic gastric atrophy was inversely associated with *H. pylori* infection, the consumption of pickled products, use of proton pump inhibitors, former smoking, as well as a family history of gastric cancer. The relationships identified between serological atrophy, *H. pylori* infection and other factors remained statistically significant after excluding participants reporting any history of *H. pylori* eradication from the analysis.

In-depth supplementary analysis was carried out stratifying participants according to the ABC classification of gastric cancer risk (Appendix 3, Tables 9 and 10).





**Figure 2.** Multivariable regression model for factors associated with serologically determined gastric atrophy, adjusting for sex, smoking and alcohol consumption, with *H. pylori* infection detected by breath test.

OR – odds ratio, CI – 95% confidence interval, PPI – use of proton pump inhibitors.

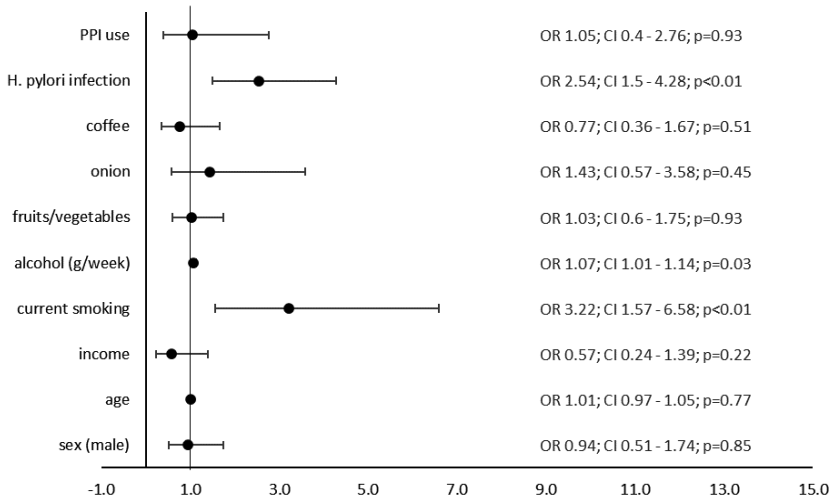
### 3.3. False negative cases in pepsinogen testing and population factors

Of 1210 participants biopsied, 367 (30.3%) participants had histologically confirmed precancerous gastric lesions. Of these, 160 (43.6%) did not have decreased pepsinogen levels, were not identified by pepsinogen testing, and were therefore classified as false negatives.

When comparing the factors identified in prior stages of the work between false negative and true positive cases, several differences related to these factors were identified, with the results of univariate analysis shown in Table 11 of Appendix 3.

Multivariate analysis was adjusted for age, histologically confirmed *H. pylori* infection, body mass index and the following factors that were significantly associated with false negative cases in univariate analysis: sex, income, smoking, consumption of alcohol, onions, coffee, and at least 400 g of fruits and vegetables daily, and a history of *H. pylori* eradication more than one year ago.

In multivariate analysis, false negative cases of pepsinogen testing were associated with smoking, alcohol consumption, a history of *H. pylori* eradication, and current *H. pylori* infection (Figure 3; Appendix 3, Table 12). Although there were more men in the false negative group and men were more likely to be smokers, no statistically significant differences were found when stratifying participants by sex.



**Figure 3.** Multivariable regression model for false negative cases in detecting precancerous gastric lesions with pepsinogen testing.

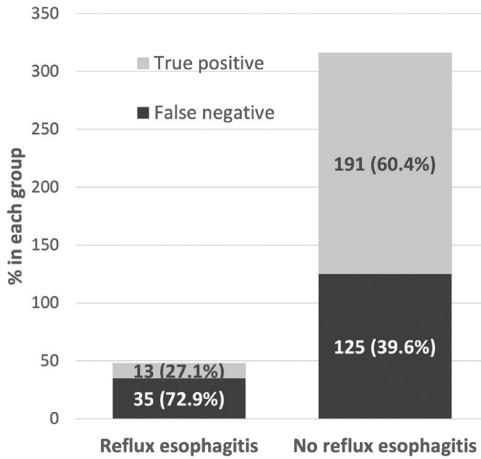
OR – odds ratio, CI – 95% confidence interval, PPI – use of proton pump inhibitors in the past month.

When investigating factors related to medical history, which could affect gastric secretion and, therefore, affect pepsinogen levels and test accuracy, a statistically significant relationship was found between false negatives and reflux esophagitis (erosive esophagitis). In the studied population, reflux esophagitis was detected in 48 of 364 (13.2%) participants during endoscopy. For participants with reflux esophagitis, false negative cases were significantly more frequent than for participants without esophagitis (72.9% versus 39.6%,  $p < 0.01$ ) (Figure 4, Table 2). In multivariate analysis, false negative cases were also associated with reflux esophagitis, smoking and *H. pylori* infection, but inversely associated with higher income (Table 2). The prevalence of false negative cases increased with increasing severity of reflux esophagitis ( $p < 0.01$ ).

**Table 2.** Multivariable regression model for false negative cases and reflux esophagitis

	OR; 95% CI
reflux esophagitis	4.5; 2.0–9.9; $p < 0.001$
current smoking	3.3; 1.7–6.6; $p = 0.001$
<i>H. pylori</i> infection	2.8; 1.6–4.5; $p < 0.001$
income (high versus low)	0.3; 0.1–0.7; $p < 0.01$

OR – odds ratio adjusted for all factors listed in the table, as well as the use of alcohol, fruit/vegetable intake, use of proton pump inhibitors, and body mass index. 95% CI – confidence interval.



**Figure 4.** False negative and true positive cases in pepsinogen testing by presence of reflux esophagitis.

### 3.4. Differences in pepsinogen values and population factors

Differences were found when comparing pepsinogen values, with those most significant summarized here. Median Pg I and Pg II values were higher, but Pg I/II ratio lower in *H. pylori* positive, than *H. pylori* negative participants. Smokers had higher Pg I and Pg II values, as well as a higher median Pg I/II ratio than never smokers (Table 3).

**Table 3.** Comparison of pepsinogen values by *H. pylori* presence and smoking status

	Pg I (ng/mL) median; IQR	Pg II (ng/mL) median; IQR	Pg I/II ratio median; IQR
<i>H. pylori</i> by breath test			
positive	47.3; 31.4	18.7; 11.7	2.6; 1.5
negative	33.3; 25.6	8.9; 5.1	4.9; 3.3
p – value *	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Smoking			
never smokers	36.8; 30.8	12.6; 12.4	2.8; 2.5
former smokers	41.5; 31.1	13.2; 11.4	2.9; 2.4
current smokers	46.0; 28.0	14.8; 12.5	3.3; 2.2
p – value**	< 0.01	< 0.01	0.01

\* Differences obtained using *Mann-Whitney U* test to compare groups.

\*\* Differences obtained using *Kruskal-Wallis* test to compare groups. IQR – interquartile range.

In order to further investigate the differences in pepsinogen values associated with both *H. pylori* and smoking, Pg I values and Pg I/II ratios were compared after dividing participants into two groups—with and without precancerous gastric lesions (Tables 4 and 5). Mean Pg I values were higher in *H. pylori* positive than negative *H. pylori* participants in both groups – with and without precancerous gastric lesions.

In the group without precancerous gastric lesions, *H. pylori* positive participants had lower Pg I/II ratio values than *H. pylori* negative participants, regardless of smoking status. In the group with precancerous gastric lesions, the median Pg I/II ratio was lower for *H. pylori* positives than negatives only for current smokers. The opposite was observed for former and never smokers – the Pg I/II ratio was higher for *H. pylori* positive participants than those *H. pylori* negative.

**Table 4.** Comparison of median Pg I/II ratio by smoking status and *H. pylori* presence for participants with and without histologically confirmed precancerous gastric lesions

	No precancerous gastric lesion Pg I/II ng/mL median; IQR		p-value*	Precancerous gastric lesion PgI/II ng/mL median; IQR		p-value*
	<i>H. pylori</i> positive	<i>H. pylori</i> negative		<i>H. pylori</i> positive	<i>H. pylori</i> negative	
Study population	2.9; 1.4	4.4; 1.8	< 0.01	1.7; 1.6	0.9; 1.8	0.01
Never smokers	2.8; 1.4	4.3; 1.8	< 0.01	1.5; 1.5	0.8; 0.9	< 0.01
Former smokers	2.9; 0.9	4.7; 1.4	< 0.01	1.8; 1.8	0.8; 0.8	0.02
Current smokers	3.1; 1.5	4.7; 2.0	< 0.01	1.9; 1.5	3.4; 4.1	0.02

\*Differences obtained using Mann-Whitney U test to compare *H. pylori* positive and negative groups (histology). IQR – interquartile range.

**Table 5.** Comparison of median Pg I by smoking status and *H. pylori* presence for participants with and without histologically confirmed precancerous gastric lesions

	No precancerous gastric lesion PgI ng/mL median; IQR		p-value*	Precancerous gastric lesion PgI ng/mL median; IQR		p-value*
	<i>H. pylori</i> positive	<i>H. pylori</i> negative		<i>H. pylori</i> positive	<i>H. pylori</i> negative	
Study population	51.5; 26.7	37.9; 19.3	< 0.01	30.3; 34.7	8.6; 20.6	< 0.01
Never smokers	51.5; 26.6	35.1; 17.3	< 0.01	26.3; 33.5	7.2; 14.1	< 0.01
Former smokers	53.1; 27.6	40.4; 17.0	< 0.01	30.1; 38.9	8.7; 8.9	< 0.01
Current smokers	51.0; 25.2	46.1; 18.8	0.04	40.5; 38.5	34.3; 33.7	0.12

\*Differences obtained using Mann-Whitney U test to compare *H. pylori* positive and negative groups. IQR – interquartile range.

### 3.5. The effect of factors on the accuracy of the pepsinogen test in detecting precancerous gastric lesions and adjustment of pepsinogen values

When comparing the sensitivity and specificity of Pg I and Pg I/II ratio for the detection of precancerous gastric lesions using the previously established pepsinogen cut-off values (Pg I/Pg II  $\leq$  2 and Pg I  $\leq$  30 ng/mL), significant differences were observed when stratifying by *H. pylori* presence and smoking status. Among smokers, the sensitivity of the test is significantly lower than in other groups, and this is affected by *H. pylori* presence (Table 6).

**Table 6.** Sensitivity and specificity for detecting precancerous gastric lesions by smoking status and *H. pylori* presence when using pre-existing pepsinogen cut-off values

	Sensitivity (%; 95% CI), specificity (%; 95% CI) and area under the ROC curve (AUC)	
	Pg I/Pg II $\leq$ 2	Pg I $\leq$ 30 ng/mL
All participants	65.38 (60.25–70.27); 87.12 (84.67–89.30); 0.82	62.64 (57.44–67.62); 81.56 (78.78–84.12); 0.75
Never smokers, HP positive	65.79 (56.32–74.42); 80.08 (74.76–84.70); 0.80	57.02 (47.41–66.25); 85.34 (80.51–89.36); 0.76
Never smokers, HP negative	81.63 (72.53–88.74); 92.37 (88.21–95.42); 0.88	90.82 (83.28–95.71); 69.92 (63.63–75.69); 0.89
Former smokers, HP positive	56.82 (41.03–71.65); 83.51 (74.60–90.27); 0.79	50.00 (34.56–65.44); 87.63 (79.39–93.44); 0.74
Former smokers, HP negative	81.48 (61.92–93.70); 94.94 (87.54–98.60); 0.96	88.89 (70.84–97.65); 78.48 (67.80–86.94); 0.93
Current smokers, HP positive	52.00 (37.42–66.34); 87.04 (79.21–92.73); 0.76	32.00 (19.52–46.70); 91.67 (84.77–96.12); 0.63
Current smokers, HP negative	32.26 (16.68–51.37); 93.33 (83.80–98.15); 0.68	38.71 (21.85–57.81); 86.67 (75.41–94.06); 0.68

CI – confidence interval; ROC – receiver operating characteristic curve; AUC – area under ROC curve; Pg – pepsinogen; HP – *Helicobacter pylori*.

New cut-offs were calculated for current smokers using Youden’s index to find Pg I and Pg I/II cut-offs that provide the highest sensitivity and specificity in identifying precancerous gastric lesions. New cut-offs were also calculated for other groups, without substantially decreasing pepsinogen test specificity (above 65%) for the purpose of comparison (Table 7). A comparison of the pre-existing and new pepsinogen cut-off values for current smokers is shown in Table 8, stratifying by *H. pylori* presence.

**Table 7.** Pepsinogen cut-off values adjusted for detecting precancerous gastric lesions in smokers by *H. pylori* presence

New Pg cut-off, sensitivity (%), specificity (%), Youden's index		
	Pg I/Pg II	Pg I (ng/mL)
Never smokers, HP positive	≤ 1.76; 60.5%; 88.0%; 0.49	≤ 30.84 ng/mL; 59.6%; 85.0%; 0.45
Never smokers, HP negative	≤ 1.81; 81.6%; 92.8%; 0.74	≤ 16.00 ng/mL; 73.5%; 94.5%; 0.68
Former smokers, HP positive	≤ 2.21; 65.9; 83.5%; 0.49	≤ 33.51 ng/mL; 54.5%; 84.5%; 0.39
Former smokers, HP negative	≤ 2.51; 92.6%; 92.4%; 0.85	≤ 22.75 ng/mL; 85.2%; 94.9%; 0.80
Current smokers, HP positive	≤ 2.07; 56.0%; 85.2%; 0.41	≤ 40.91 ng/mL; 54.0%; 76.9%; 0.31
Current smokers, HP negative	≤ 3.01; 48.4%; 86.7%; 0.35	≤ 37.75 ng/mL; 67.7%; 71.7%; 0.39

HP - *Helicobacter pylori*, Pg - pepsinogen.

**Table 8.** Sensitivity and specificity of pre-existing and new pepsinogen cut-off values for current smokers by *H. pylori* presence

Pg cut-off, sensitivity (%), specificity (%)		
	Pg I/Pg II	Pg I (ng/mL)
<b>Current smokers, <i>H. pylori</i> positive, pre-existing cut-offs</b>	Pg I/II ≤ 2.00 52.0% (CI 37.4–66.3) 87.0% (CI 79.2–92.7), AUC 0.76	Pg I ≤ 30.00 32.0% (CI 19.52 – 46.70) 91.7% (CI 84.8–96.1), AUC 0.63
New cut-offs	Pg I/II ≤ 2.07 56.0% 85.2%, JJ 0.41	Pg I ≤ 40.91 54.0% 76.9 %, JJ 0.31
<b>Current smokers, <i>H. pylori</i> negative, pre-existing cut-offs</b>	Pg I/II ≤ 2.00 32.3% (CI 16.7–51.4) 93.3% (CI 83.8–98.2), AUC 0.68	Pg I ≤ 30.00 38.7 % (CI 21.9–57.8) 86.7% (CI 75.4–94.1), AUC 0.68
New cut-offs	Pg I/II ≤ 3.01 48.4% 86.7%, JJ 0.35	Pg I ≤ 37.75 ng/mL 67.7% 71.7%, JJ 0.39

Pg – pepsinogen, JJ – Youden's index, AUC – area under ROC curve, CI – 95% confidence interval.

## 4. DISCUSSION

### 4.1. Prevalence of *Helicobacter pylori* and population factors

Although *H. pylori* prevalence is most often associated with lower socio-economic status in literature (Eusebi *et al.*, 2014), no convincing association was not found. It is possible that the data collected on income and employment may be inaccurate, as there has been a high share of unofficial or “envelope wages” in Latvia (45.5% in 2017) (Sauka & Putnins, 2009), which may have led to the underreporting of actual income.

Circumstances created by a reduction in income inequality (GINI coefficient) and economic growth post-crisis could also have created conditions where the association between *H. pylori*, income and unemployment disappears. Around the time of recruitment, Latvia had the fourth highest GINI coefficient in the EU-28, indicating a significant level of income inequality (Central Statistical Bureau, 2018). However, the missing association with income might be reflected indirectly as the tendency observed in regards to level of education and other factors indirectly linked to education (lifestyle).

Given the above, lifestyle characteristics may better serve as indicators of socioeconomic and educational status in the current study population. This could be used to explain why significant associations remained between *H. pylori* and lifestyle and dietary factors but not income and education in multivariate analysis. It must be noted that in univariate analysis the highest percentage of *H. pylori* positives was in the lowest education group, while the lowest – in the higher education group. In most studies, higher education has been linked to lower *H. pylori* prevalence (Zhu *et al.*, 2014; EUROGAST, 1993). In supplementary analysis, the level of education was also associated with other factors, that were significantly associated with *H. pylori*. Lower level of education, just like *H. pylori* prevalence, was associated with lower consumption of fruit and vegetables, more frequent use of hot foods and drinks, smoking, and a history of peptic ulcer and cardiovascular disease. It is possible, that in multivariate analysis, the strength association between level of education and *H. pylori* prevalence is decreased by these and other lifestyle and diet-related confounding factors, the effects of which overlap.

With taxonomy based analysis, after dividing participants in groups characterized by multiple factors at once, it was possible to investigate the interaction between socioeconomic and lifestyle factors in more detail (Połaka *et al.*, 2021). After stratifying the participants by sex, education and income level differences emerged – *H. pylori* prevalence was lower among women with higher education and higher income (OR 0.76; 95% CI 0.48-1.20) when compared to men (OR

0.65; 95% CI 0.42-1.01). The statistical significance was borderline ( $p = 0.056$ ), which is most likely due to the small sample size after group stratification, which tends to be a common limitation for taxonomy based analysis.

In multivariate analysis a significant and strong association was observed between *H. pylori* prevalence and the consumption of dairy. In supplementary analysis no confounding factors were found, indicating that dairy consumption could be an independent factor associated with *H. pylori*. Unfortunately during data collection the consumption of milk was not distinguished from other dairy products, but given the popularity of milk in the country, it can be assumed that it accounted for a large proportion of the dairy consumed.

Milk may serve as a vector for *H. pylori* transmission – the bacterium is found in up to 50% of raw milk samples in Italy (Quaglia *et al.*, 2008, Mousav *et al.*, 2014). In Latvia, the use of raw unpasteurized milk was very popular, especially in rural areas. The increased rate of *H. pylori* among those currently consuming more dairy might be a reflection of circumstances allowing for the acquiring of the bacterium in childhood and early adulthood, as *H. pylori* infection is thought to usually occur during childhood, especially with low socioeconomic conditions (Eusebi *et al.*, 2014; Ozbey *et al.*, 2017). If the participants currently reporting higher consumption of dairy products also did so in childhood, the higher rate of *H. pylori* could be explained by infection several decades ago.

## 4.2. Serological gastric mucosal atrophy and population factors

The reported prevalence of serologic gastric atrophy in European countries ranges from 4.4% in Italy to 6.6% in Sweden (Brenner *et al.*, 2007; Storskrubb *et al.*, 2008; Di Mario *et al.*, 2017), which is not much lower than the 7.7% in our study population. It must be noted that the comparison of serological atrophy between countries is complicated by differences in methodology and chosen age groups.

Several significant associations were found between serological gastric atrophy and diet, smoking, alcohol consumption, and *H. pylori*. The characteristics of these associations often differed from those reported in other studies. Comparison of results is made difficult, that most of the larger studies have investigated diet-related factors in relation to gastric cancer and not gastric atrophy or pepsinogen. A more detailed discussion of the associations found between individual factors and serological gastric atrophy can be found in the respective article (Razuka-Ebela *et al.* 2022a).

A surprising observation was the inverse association between *H. pylori* and serological gastric atrophy regardless of the method used to detect *H. pylori* (breath test or serology) and also after excluding participants with any history of eradication. It seems that only one other study has reported



an inverse relationship (Muhsen *et al.*, 2019). Multiple studies have reported a strong association between *H. pylori* and chronic atrophic gastritis regardless of the method used for identifying atrophy (serology or histology) (Weck & Brenner, 2008; Adamu *et al.*, 2011). Potential drawbacks of both the histologic and serologic approach of identifying atrophy, as well as disappearance of *H. pylori* with increasing severity of atrophic gastritis and older age might lead to weakening of the association with *H. pylori* and its disappearance (Weck & Brenner, 2008). Although participants with serological atrophy were on average older than participants without serological atrophy, additional analysis did not confirm age as a decisive factor – when grouping participants according to the ABC gastric cancer risk classification, those in group D (*H. pylori* negative with serologic atrophy) were not significantly older than those in group C (*H. pylori* positive with serologic atrophy).

In the analysis, the number of participants in group C (*H. pylori* positive with serologic atrophy) and group D (*H. pylori* negative with serologic atrophy) was similar, making up 3.4% and 3.8% of the study population. Based on pathogenetic mechanisms it was anticipated that group C would have a higher number of participants than group D. This observation raised the question of whether false negative cases of serologic atrophy might be significantly affecting the model and the associations observed.

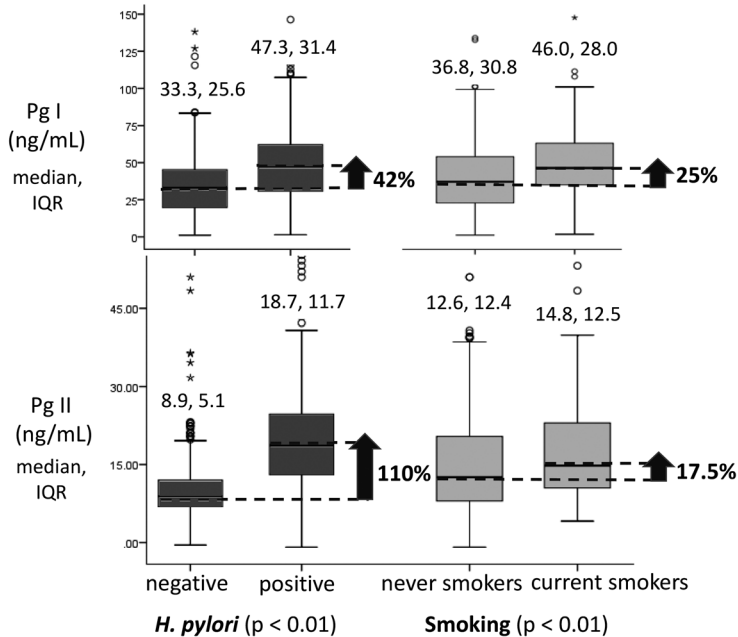
### **4.3. The effect of factors on the accuracy of the pepsinogen test in detecting precancerous gastric lesions**

When using the pre-existing pepsinogen cut-offs in the study population, there was a comparatively high number of false negative cases (160 of 367 histologically confirmed precancerous lesions or 43.6%), indicating that the accuracy of the test needs to be improved.

The accuracy of the pepsinogen test was significantly affected by smoking and *H. pylori* infection. A detailed discussion of other factors that were associated with a higher false negative rate can be found in the respective article (Razuka-Ebela *et al.*, 2022b).

As in this work and as in other studies, Pg I and Pg II values were higher for *H. pylori* positive, than *H. pylori* negative participants (Sun *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2016, Yu *et al.*, 2021). A greater difference in Pg II than Pg I values, when comparing *H. pylori* positive participants with *H. pylori* negative participants, could be used to explain a relatively lower Pg I/II ratio among *H. pylori* positive participants (increase in Pg II by 110%, in Pg I by 42%, Figure 5, Table 3). This explanation is also supported by the fact that inflammation caused by *H. pylori* infection can significantly increase the secretion of Pg II in particular, since the gastric antrum contains both Pg II secreting cells and provides the best environment for *H. pylori* survival (Correa & Piazuelo, 2012; Yu *et al.*, 2021).

In this work, smokers had higher Pg I, Pg II, as well as Pg I/II values compared to never smokers. A higher Pg I/II ratio for smokers could be explained by the comparatively larger difference in Pg I than Pg II values when comparing smokers to never smokers (Pg I by 25%, while Pg II by 17.5% higher, Figure 5, Table 3). It has been described in literature that smoking can increase gastric secretion and is associated with an increase in Pg I (Parente *et al.*, 1985; Sakamoto, 2010). The relatively higher level of Pg I could be used to explain why smokers are more likely to be false negative.



**Figure 5.** The effect of *H. pylori* and smoking on pepsinogen values.

Pg – pepsinogen, IQR – interquartile range. Differences in pepsinogen values (%) are shown when comparing the respective groups. Detailed data can be found in Table 3.

Supplementary analysis revealed that *H. pylori* and smoking not only displayed independent effects on pepsinogen levels, but that *H. pylori* seemed to modify the effect current smoking had on pepsinogen levels.

This observation is supported by sensitivity and specificity analysis for the pepsinogen test, where smokers had significantly lower test sensitivity. In fact, the lowest sensitivity for Pg I and Pg I/II was found for smokers without *H. pylori* infections (Table 6), possibly due to an increase in Pg I caused by smoking. For smokers with *H. pylori* infection the sensitivity of the test was also

significantly lower for Pg I, but better for Pg I/II, possibly due to a relatively higher Pg II level due to the presence of *H. pylori* (Figure 5). This indicates that due to the peculiarities of changes in pepsinogen values the effect created by *H. pylori* counteracts the effect of smoking, so improving the sensitivity of the pepsinogen test in smokers and decreasing the risk of false negatives.

In multivariate analysis an association was observed between false negative cases and male sex. Taking into account that several studies have reported an association between age, sex and pepsinogen levels, the study should be repeated in a larger population that would allow for the stratification of participants into groups based on not only smoking status and *H. pylori* presence, but also by sex, adjusting for age. For the current study population, groups became too small for sensitivity analysis, and it was not possible to properly evaluate the potential role of sex.

#### **4.4. Improving the accuracy of the pepsinogen test**

The analysis of sensitivity and specificity indicate that smoking and *H. pylori*, as well as the combination of both factors, are able to significantly affect the capacity of the pepsinogen test to identify precancerous gastric lesions. The effect of smoking on the accuracy of the pepsinogen test was modified by the presence of *H. pylori* infection. This means that in order to improve the performance of the pepsinogen test, both the independent and the combined effects of smoking and *H. pylori* must be considered.

It was possible to calculate new new pepsinogen cut-offs to improve the sensitivity of the pepsinogen test in identifying precancerous gastric lesions. The calculations made show that the effect of smoking on pepsinogen values differs not only between *H. pylori* positive and *H. pylori* negative participants, but also on a more global level by the presence or absence of histologically verified precancerous gastric lesions.

From the available data published so far, only Tong *et al.* (2017) improved the accuracy of the pepsinogen test in detecting atrophic gastritis by adjusting pepsinogen cut-offs according to *H. pylori* presence in China. So far, there have been no other published data where pepsinogen cut-offs have been successfully adjusted for two factors simultaneously – both for *H. pylori* infection and for smoking.

Based on the results obtained, screening for precancerous gastric lesions could be improved in one of two ways:

1. By calculating and applying new pepsinogen cut-offs for smokers.
2. By not using the pepsinogen test to screen for precancerous gastric lesions in smokers.

In order to decide on the best approach, it is necessary to first repeat sensitivity analysis for the pepsinogen test in a larger population, taking into account sex

and age. It would also be necessary to repeat the analysis in another population in a different country, in order to assess whether the results are compatible between different populations. Additionally, cost-effectiveness analysis of each approach must be conducted. Finally, given the nature of pepsinogen as a biomarker, it would be beneficial to repeat pepsinogen measurements after some time in order to assess whether the values determined at different times correlate.

#### **4.5. Advantages and limitations of the study**

The work includes a large number of participants and simultaneously explores a large number of different population factors. In European countries, such studies are lacking and have not included such a large number of factors at once. The number of factors and participants included increased the chances of finding associations that might otherwise go unnoticed. The large number of sometimes interrelated factors allowed for in-depth additional analyses and cross validation calculations, which helped support and explain the associations identified in multivariate analysis.

The study was cross-sectional in nature and so conclusions cannot be made regarding cause and effect. No conclusive statements can be made as to whether lifestyle factors are related to *H. pylori* infection, or whether they are the product of long-term consequences, such as that of socio-economic status or childhood conditions. For the same reasons conclusive statements cannot be made about any causal relationships between lifestyle factors and gastric mucosal atrophy.

The collection of data on dietary and other habits was based on the memory of participants. The accuracy of the data may be affected by recall bias and it may not accurately reflect daily dietary habits over the long term. Therefore, the results should be interpreted critically, in particular with regard to any potential long-term effects of the factors. In the course of the work, based on the feedback and observations of the participants and the research team, several corrections and additions have been made to the questionnaire in order to improve the accuracy of the collected data.

In order to be able to fully analyse and interpret any causal relationships, it is necessary to conduct a prospective study. Given the prospective design of the GISTAR study, there is an opportunity to continue this work in the future.

However, despite the limitations of a cross-sectional study, the work conducted has resulted in a clinically applicable contribution – it has been determined that a different approach is necessary for smokers in order to improve the accuracy of the pepsinogen test.

## 5. CONCLUSIONS

During the course of the work, the hypotheses initially put forward were confirmed:

1. Factors characteristic of a population can influence the accuracy of the pepsinogen test in detecting precancerous gastric lesions.
2. The accuracy of the pepsinogen test in detecting gastric precancerous lesions can be improved using a population tailored approach.

Based on the results of the work, the following conclusions have been made:

1. In multivariate analysis *H. pylori* infection was associated with smoking, regular binge-drinking, consumption of dairy and hot foods and drinks, but inversely associated with the consumption of fruit and vegetables, as well as a history of peptic ulcer and cardiovascular disease.
2. In multivariate analysis the prevalence of serological gastric atrophy was associated with increasing age, smoking, more frequent consumption of alcohol, coffee and onions, but was inversely associated with *H. pylori* infection, frequent consumption of pickled products, and the use of proton pump inhibitors.
3. False negative pepsinogen test results, when detecting precancerous gastric lesions, were more common among smokers, participants with *H. pylori* infection, reflux esophagitis, a history of *H. pylori* eradication, and those consuming more alcohol.
4. The accuracy of the pepsinogen test was significantly reduced by smoking, and the effect of smoking was modified by the presence of *H. pylori*. These factors should be taken into account when interpreting the results of the pepsinogen test when screening for precancerous gastric lesions.
5. The results of the work indicate that a modified approach is needed for smokers in order to improve screening for precancerous gastric lesions. For smokers, the accuracy of the pepsinogen test could be improved by using cut-offs adjusted according to *H. pylori* status.

### Practical implications of the study

The work demonstrates that the accuracy of the pepsinogen test could be improved using a population tailored approach. For the first time, new pepsinogen cut-offs were calculated simultaneously adjusting for two factors – smoking and *H. pylori* infection, so improving the sensitivity of the test for detecting precancerous gastric lesions in smokers. The resulting investigation and calculations are not only based on the individual effects of smoking and *H. pylori*

as two distinct factors, but take into account the crucial interaction between the two.

The results indicate that, in order to improve screening for precancerous gastric lesions, a different approach is necessary for smokers – either by adjusting pepsinogen cut-offs based on *H. pylori* presence, or by not using the pepsinogen test in this subgroup of the population. In order to decide on the best approach, it is necessary to repeat the study with a larger number of participants and conduct cost-effectiveness analysis.

## IZMANTOTĀ LITERATŪRA / REFERENCE LIST

1. Adamu MA, Weck MN, Rothenbacher D, Brenner H. (2011). Incidence and risk factors for the development of chronic atrophic gastritis: five year follow-up of a population-based cohort study. *Int J Cancer* 128:1652–1658.
2. Amieva M, Peek RM Jr. (2016). Pathobiology of *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer. *Gastroenterology* 150(1):64–78.
3. Bang CS, Lee JJ, Baik GH. (2019). Prediction of chronic atrophic gastritis and gastric neoplasms by serum pepsinogen assay: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy. *J Clin Med* 8:E657.
4. Beevers DG, Lip GYH, Blann AD. (2004). Salt intake and *Helicobacter pylori* infection. *J Hypertens* 22:1475–1477.
5. Bellack NR, Koehoorn MW, Macnab YC, Morshed MG. (2006). A conceptual model of water's role as a reservoir in *Helicobacter pylori* transmission: a review of the evidence. *Epidemiology and Infection* 134.3:439–449.
6. Bertuccio P, Rosato V, Andreano A, Ferraroni M, Decarli A, Edefonti V, La Vecchia C. (2013). Dietary patterns and gastric cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol* 24:1450–1458.
7. Brenner H, Rothenbacher D, Weck MN. (2007). Epidemiologic findings on serologically defined chronic atrophic gastritis strongly depend on the choice of the cut-off value. *Int J Cancer* 121:2782–2786.
8. Centrālā statistikas pārvalde. (2018). *Latvijas Statistikas gadagrāmata*. Pieejams: <https://www.csb.gov.lv/en/statistics/statistics-bytheme/economy/gdp/search-in-theme/298-latvia-statistics-brief-2018>
9. Chen C, Xun P, Tsinovoi C, He K. (2017). Accumulated evidence on *Helicobacter pylori* infection and the risk of asthma: a meta-analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 119:137–145.
10. Chi H, Bair MJ, Wu MS, Chiu NC, Hsiao YC, Chang KY. (2009). Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in high-school students on Lanyu island, Taiwan: risk factor analysis and effect on growth. *J Formos Med Assoc* 108:929–936.
11. Correa P, Piazuelo MB. (2012). The gastric precancerous cascade. *J Dig Dis* 13(1):2–9.
12. Di Mario F, Grillo S, Cesario S, Miraglia C, Seida S, Landi S, et al. (2017). Prevalence of atrophic gastritis in general population: a gastropanel-based study, compared with OLGA histological classification. *UEG J* 5(suppl1):A569.
13. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. (1996). Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 20(10):1161–81.
14. EUROGAST Study Group. (1993). Epidemiology of, and risk factors for, *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. *Gut* 34:1672–1676.
15. Eurohepygast Study Group. (2002). Risk factors for atrophic chronic gastritis in a European population: results of the Eurohepygast study. *Gut* 50:779–785.
16. Eiropas Komisija. (09.12.2022). *European Health Union: Commission welcomes adoption of new EU cancer screening recommendations*. Pieejams: [https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP\\_22\\_7548](https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP_22_7548)

17. Eusebi LH, Zagari RM, Bazzoli F. (2014). Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 19(1):1–5.
18. Filipe MI, Munoz N, Matko I, Kato I, Pompe-Kirn V, Jutersek A, *et al.* (1994). Intestinal metaplasia types and the risk of gastric cancer: a cohort study in Slovenia. *Int J Cancer* 57:324–9.
19. Fontham E, Zavala D, Correa P, Rodriguez E, Hunter F, Haenszel W, Tannenbaum SR. (1986). Diet and chronic atrophic gastritis: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* 76(4):621–7.
20. Goni E, Franceschi F. (2016). *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Helicobacter* 21(S1):45–48.
21. Gonzalez CA, Pera G, Agudo A, Palli D, Krogh V, Vineis P, *et al.* (2003). Smoking and the risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 107(4):629–34.
22. Guo Y, Shan Z, Ren H, Chen W. (2015). Dairy consumption and gastric cancer risk: a meta-analysis of epidemiological studies. *Nutr Cancer* 67(4):555–68.
23. Haley KP, Gaddy JA. (2016). Nutrition and *Helicobacter pylori*: host diet and nutritional immunity influence bacterial virulence and disease outcome. *Gastroenterol Res Pract* 2016:3019362.
24. Hirschowitz BI. (1984). Pepsinogen. *Postgrad Med J* 60(709):743–50.
25. Hokkanen S, Kosunen TU, Sarna S, Miettinen A, Salomaa A, Aromaa A, *et al.* (2005). Normal serum pepsinogen I levels in adults: a population-based study with special reference to *Helicobacter pylori* infection and parietal cell antibodies. *Scand J Clin Lab Invest* 65(4):291–9.
26. Holubiuk L, Imiela J. (2016). Diet and *Helicobacter pylori* infection. *Prz Gastroenterol* 11:150–154.
27. Huang YK, Yu JC, Kang WM, Ma ZQ, Ye X, Tian SB, Yan C. (2015). Significance of serum pepsinogens as a biomarker for gastric cancer and atrophic gastritis screening: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 10:e0142080.
28. Huang RG, Xiao HL, Zhou B, Song XH, Zhang J, Wang CM, *et al.* (2016). Serum pepsinogen levels are correlated with age, sex and the level of *Helicobacter pylori* infection in healthy individuals. *Am J Med Sci* 352:481–486.
29. IBM Corp. (2012). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.
30. Jarosz M, Rychlik E, Siuba M, Respondek W, Ryzko-Skiba M, Sajor I, *et al.* (2009). Dietary and socio-economic factors in relation to *Helicobacter pylori* re-infection. *World J Gastroenterol* 15:1119–1125.
31. Kato I, Vivas J, Plummer M, Lopez G, Peraza S, Castro D, *et al.* (2004). Environmental factors in *Helicobacter pylori* related gastric precancerous lesions in Venezuela. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13(3):468–76.
32. Kikuchi S, Kurosawa M, Sakiyama T, Tenjin H. (2002). Long-term effect of smoking on serum pepsinogen values. *J Epidemiol* 12:351–356.
33. Kim SR, Kim K, Lee SA, Kwon SO, Lee JK, Keum N, Park SM. (2019). Effect of red, processed, and white meat consumption on the risk of gastric cancer: an overall and dose response meta-analysis. *Nutrients* 11(4):826.
34. Koivisto TT, Voutilainen ME, Färkkilä MA. (2008). Effect of smoking on gastric histology in *Helicobacter pylori*-positive gastritis. *Scand J Gastroenterol* 43:1177–1183.



35. KTL-National Public Health Institute. (2007). *Finbalt Health Monitor*. Pieejams: <https://www.spkc.gov.lv/lv/media/4315/download>
36. Kuipers EJ, Pals G, Pena AS, van Uffelen CW, Kok A, Westerveld BD, Muiwissen SG. (1996). *Helicobacter pylori*, pepsinogens and gastrin: relationship with age and development of atrophic gastritis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 8:153–6.
37. Kutsuma A, Oshida H, Suwa K, Nakajima K (2014). A possible association of low pepsinogen I and pepsinogen I/II with low and high body weight in Japanese men. *Clin Biochem* 47, 126–128.
38. Ladeiras-Lopes R, Pereira AK, Nogueira A, Pinheiro-Torres T, Pinto I, Santos-Pereira R, Lunet N. (2008). Smoking and gastric cancer: systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Cancer Causes Control* 19(7):689–701.
39. Leja M, Camargo MC, Polaka I, Isajevs S, Liepniece-Karele I, Janciauskas D, et al. (2017b). Detection of gastric atrophy by circulating pepsinogens: A comparison of three assays. *Helicobacter* 22:e12393.
40. Leja M, Cine E, Rudzite D, Vilkoite I, Huttunen T, Daugule I, et al. (2012). Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and atrophic gastritis in Latvia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 24(12):1410–7.
41. Leja M, Park JY, Murillo R, Liepniece-Karele I, Isajevs S, Kikuste I, et al. (2017a). Multicentric randomised study of *Helicobacter pylori* eradication and pepsinogen testing for prevention of gastric cancer mortality: the GISTAR study. *BMJ Open* 2017; 7:e016999.
42. Leja M, Dumpis U. (2020). What would the screen-and-treat strategy for *Helicobacter pylori* mean in terms of antibiotic consumption? *Dig Dis Sci* 65(6):1632–1642.
43. Lim SH, Kwon JW, Kim N, Kim GH, Kang JM, Park MJ, et al. (2013). Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in Korea: nationwide multicenter study over 13 years. *BMC Gastroenterol* 13:104. doi:10.1186/1471-230X-13-104
44. Liu SY, Han XC, Sun J, Chen GX, Zhou XY, Zhang GX. (2016). Alcohol intake and *Helicobacter pylori* infection: a dose-response meta-analysis of observational studies. *Infect Dis (Lond)* 48:303–309.
45. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, et al. (2017). Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut* 66:6–30.
46. Malfertheiner P, Megraud F, Rokkas T, Gisbert JP, Liou JM, Schulz C, Gasbarrini A, Hunt RH, Leja M, O'Morain C, Rugge M, Suerbaum S, Tilg H, Sugano K, El-Omar EM, European *Helicobacter* and Microbiota Study group. (2022). Management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht VI/Florence consensus report. *Gut* 71(9).
47. Mansour-Ghanaei F, Joukar F, Baghaee M, Sepehrmanesh M, Hojati A. (2019). Only serum pepsinogen I and pepsinogen I/II ratio are specific and sensitive biomarkers for screening of gastric cancer. *Biomol Concepts* 10:82–90.
48. Mard SA, Khadem Haghghian H, Sebghatulahi V, Ahmadi B (2014). Dietary factors in relation to *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Res Pract* 2014:826910.
49. Mbulaiteye SM, Hisada M, El-Omar EM. (2009). *Helicobacter pylori* associated global gastric cancer burden. *Front Biosci (Landmark Ed)* 14:1490–1504.
50. Mhaskar RS, Ricardo I, Azliyati A, Laxminarayan R, Amol B, Santosh W, Boo K. (2013). Assessment of risk factors of *Helicobacter Pylori* infection and peptic ulcer disease. *J Glob Infect Dis* 5:60–67.

51. Miki K. (2006). Gastric cancer screening using the serum pepsinogen test method. *Gastric Cancer* 2006;9(4):245–53.
52. Monno R, De Laurentiis V, Trerotoli P, Roselli AM, Ierardi E, Portincasa P. (2019). *Helicobacter pylori* infection: association with dietary habits and socioeconomic conditions. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 43:603–607.
53. Mousavi S, Dehkordi FS, Rahimi E. (2014). Virulence factors and antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated from raw milk and unpasteurized dairy products in Iran. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 20:51.
54. Muhsen K, Sinnreich R, Merom D, Beer-Davidson G, Nassar H, Cohen D, Kark JD. (2019). Prevalence and determinants of serological evidence of atrophic gastritis among Arab and Jewish residents of Jerusalem: a cross-sectional study. *BMJ Open* 9:e024689.
55. Nakamura M, Haruma K, Kamada T, Mihara M, Yoshihara M, Sumioka M, et al. (2002). Cigarette smoking promotes atrophic gastritis in *Helicobacter pylori*-positive subjects. *Dig Dis Sci* 47:675–681.
56. Nouriae M, Latifi-Navid S, Rezvan H, Radmard AR, Maghsudlu M, Zaer-Rezaii H, et al. (2009). Childhood hygienic practice and family education status determine the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Iran. *Helicobacter* 14(1):40–6.
57. Nugawela MD, Langley T, Szatkowski L, Lewis S. (2016). Measuring alcohol consumption in population surveys: a review of international guidelines and comparison with surveys in England. *Alcohol and Alcoholism* 51(1): 84–92.
58. Ogihara A, Kikuchi S, Hasegawa A, Kurosawa M, Miki K, Kaneko E, Mizukoshi H. (2000). Relationship between *Helicobacter pylori* infection and smoking and drinking habits. *J Gastroenterol Hepatol* 15:271–276.
59. Ozaydin N, Turkyilmaz SA, Cali S. (2013). Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* in Turkey: a nationally-representative, crosssectional, screening with the <sup>13</sup>C-urea breath test. *BMC Public Health* 13:1215.
60. Ozbey G, Hanafiah A. (2017). Epidemiology, diagnosis, and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in children. *Euroasian J Hepatogastroenterol* 7:34–39.
61. Pals G, Defize J, Pronk JC, Frants RR, Eriksson AW, Westerveld BD, et al. (1985). Relations between serum pepsinogen levels, pepsinogen phenotypes, ABO blood groups, age and sex in blood donors. *Ann Hum Biol* 12:403–11.
62. Parente F, Lazzaroni M, Sangaletti O, Baroni S, Bianchi Porro G. (1985). Cigarette smoking, gastric acid secretion, and serum pepsinogen I concentrations in duodenal ulcer patients. *Gut* 26(12):1327–32.
63. Pasaules Veselibas Organizācija. (2021). *Health promotion and disease prevention through population-based interventions*. Pieejams: <http://www.emro.who.int/about-who/public-health-functions/health-promotion-disease-prevention.html>
64. Pasaules veselibas organizācija. (2003a). *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation*. Pieejams: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42665>
65. Pasaules veselibas organizācija. (2003b). *CINDI health monitor*. Pieejams: [https://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0017/240236/e79396.pdf](https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0017/240236/e79396.pdf)
66. Pasaules veselibas organizācija. (2010). *Global recommendations on physical activity for health*. Pieejams: [www.who.int/dietphysicalactivity/publications/9789241599979/en/](http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/9789241599979/en/)
67. Pimentel-Nunes P, Libânio D, Marcos-Pinto R, Areia M, Leja M, Esposito G, et al. (2019). Management of epithelial precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS II): European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European

- Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG), European Society of Pathology (ESP), and Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED) guideline update 2019. *Endoscopy* 51(4):365–388.
68. Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, de Martel C. (2015). Global burden of gastric cancer attributable to *Helicobacter pylori*. *Int J Cancer* 136(2):487–90.
  69. Polaka I, Razuka-Ebela D, Park JY, Leja M. (2021). Taxonomy-based data representation for data mining: an example of the magnitude of risk associated with *H. pylori* infection. *BioData Mining* 14(43).
  70. Quaglia NC, Dambrosio A, Normanno G, Parisi A, Patrono R, Ranieri G, et al. (2008). High occurrence of *Helicobacter pylori* in raw goat, sheep and cow milk inferred by glmM gene: a risk of food-borne infection? *Int J Food Microbiol* 124:43–47.
  71. Rahmani Y, Mohammadi S, Babanejad M, Rai A, Zalei B, Shahmohammadi A. (2017). Association of *Helicobacter pylori* with presence of myocardial infarction in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Ethiop J Health Sci* 27:433–440.
  72. Razuka-Ebela D, Polaka I, Daugule I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Rudzite D, Vangravs R, Herrero R, Young Park J, Leja M (2022b). Factors associated with false negative results in serum pepsinogen testing for precancerous gastric lesions in a European population in the GISTAR study. *Diagnostics* 12(5):1166.
  73. Razuka-Ebela D, Polaka I, Daugule I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Rudzite D, Vangravs R, Herrero R, Young Park J, Leja M (2022a). Lifestyle and dietary factors associated with serologically detected gastric atrophy in a Caucasian population in the GISTAR study. *Eur J Cancer Prev* 31(5):442–450.
  74. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Tzivian L, Young Park J, Leja M (2020). Sociodemographic, lifestyle and medical factors associated with *Helicobacter pylori* infection. *J Gastrointestin Liver Dis* 29(3):319–327.
  75. Ražuka-Ebela D, Giupponi B, Franceschi F. (2018). *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Helicobacter* 23(S1):e12520.
  76. Roberts SE, Morrison-Rees S, Samuel DG, Thorne K, Akhbari A, Williams JG. (2016). Review article: the prevalence of *Helicobacter pylori* and the incidence of gastric cancer across Europe. *Aliment Pharmacol Ther* 43:334–345.
  77. Roma E, Panayiotou J, Pachoula J, Kafritsa Y, Constantinidou C, Mentis A, Syriopoulou V. (2009). Intrafamilial spread of *Helicobacter pylori* infection in Greece. *J Clin Gastroenterol* 43:711–715.
  78. Rugge M, Capelle LG, Cappellesso R, Nitti D, Kuipers EJ. (2013). Precancerous lesions in the stomach: from biology to clinical patient management. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 27:205–23.
  79. Sakamoto K. (2010). Pathologic Response of the Gastrointestinal Tract to Toxicants. *Comprehensive Toxicology (2nd Edition, 93–115)*. New York: Elsevier Science.
  80. Sauka A, Putniņš T. (2019). *Shadow Economy Index for the Baltic Countries 2009–2017*. Stockholm School of Economics in Riga. Pieejams: <https://www.sseriga.edu/shadow-economy-index-baltic-countries>
  81. Song JH, Kim YS, Heo NJ, Lim JH, Yang SY, Chung GE, Kim JS. (2017a). High salt intake is associated with atrophic gastritis with intestinal metaplasia. *Cancer Epidem Biomar* 26, 1133–1138.
  82. Song JH, Kim SG, Jin EH, Lim JH, Yang SY. (2017b). Risk factors for gastric tumorigenesis in underlying gastric mucosal atrophy. *Gut Liver* 11:612–619.

83. Starptautiskā Vēža izpētes aģentūra. (2012). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2012; 100B:385–435. Pieejams: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Biological-Agents-2012>
84. Storskrubb T, Aro P, Ronkainen J, Sipponen P, Nyhlin H, Talley NJ, *et al.* (2008). Serum biomarkers provide an accurate method for diagnosis of atrophic gastritis in a general population: the Kalixanda study. *Scand J Gastroenterol* 43:1448–1455.
85. Sun LP, Gong YH, Wang L, Yuan Y. (2007). Serum pepsinogen levels and their influencing factors: a population-based study in 6990 Chinese from North China. *World J Gastroenterol* 13:6562–6567.
86. Tatemichi M, Kabuto M, Tsugane S. (2001). Effect of smoking on serum pepsinogen I level depends on serological status of *Helicobacter pylori*. *Jpn J Cancer Res* 92:243–248.
87. Tong Y, Wang H, Zhao Y, He X, Xu H, Li H, *et al.* (2021). Serum pepsinogen levels in different regions of China and its influencing factors: a multicenter cross-sectional study. *BMC Gastroenterol* 21(1):264. doi: 10.1186/s12876-021-01794-6.
88. Tong Y, Wu Y, Song Z, Yu Y, Yu X (2017). The potential value of serum pepsinogen for the diagnosis of atrophic gastritis among the health check-up populations in China: a diagnostic clinical research. *BMC Gastroenterol* 17:88.
89. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, *et al.* (2001). *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *RJN Engl J Med* 33: 345(11):784–9.
90. Veenendaal RA, Biemond I, Pena AS, van Duijn W, Kreuning J, Lamers CB. (1992). Influence of age and *Helicobacter pylori* infection on serum pepsinogens in healthy blood transfusion donors. *Gut* 33:452–5.
91. Wang J, Geng L. (2019). Effects of socioeconomic status on physical and psychological health: lifestyle as a mediator. *Int J Environ Res Public Health* 16:E281.
92. Weck MN, Brenner H. (2008). Association of *Helicobacter pylori* infection with chronic atrophic gastritis: meta-analyses according to type of disease definition. *Int J Cancer* 123:874–881.
93. Westerveld BD, Pals G, Lamers CB, Defize J, Pronk JC, Frants RR, *et al.* (1987). Clinical significance of pepsinogen A isozymogens, serum pepsinogen A and C levels, and serum gastrin levels. *Cancer* 59:952–8.
94. Wirth HP, Yang M. (2016). Different pathophysiology of gastritis in East and West? A Western perspective. *Inflamm Intest Dis* 1:113–122.
95. Yamaguchi Y, Nagata Y, Hiratsuka R, Kawase Y, Tominaga T, Takeuchi S, *et al.* (2016). Gastric cancer screening by combined assay for serum anti-*Helicobacter pylori* IgG antibody and serum pepsinogen levels – the ABC method. *Digestion* 93(1):13–18.
96. Yu H, Liu Y, Jiang S, Zhou Y, Guan Z, Dong S, Chu FF, Kang C, Gao Q. (2021). Serum pepsinogen II levels are doubled with *Helicobacter pylori* infection in an asymptomatic population of 40,383 Chinese subjects. *Medicine (Baltimore)* 100(27):e26562.
97. Yu XJ, Yang X, Feng L, Wang LL, Dong QJ. (2017). Association between *Helicobacter pylori* infection and angiographically demonstrated coronary artery disease: a meta-analysis. *Exp Ther Med* 13:787–793.

98. Zaman C, Osaki T, Furuta Y, Hojo F, Yonezawa H, Konno M, et al. (2019). Enhanced infectivity of strains of *Helicobacter pylori* isolated from children compared with parental strains. *J Med Microbiol* 68(4):633–641.
99. Zhang L, Eslick GD, Xia HH, Wu C, Phung N, Talley NJ. (2010). Relationship between alcohol consumption and active *Helicobacter pylori* infection. *Alcohol Alcohol* 45:89–94.
100. Zhang Z, Xu G, Ma M, Yang J, Liu X. (2013). Dietary fiber intake reduces risk for gastric cancer: a meta-analysis. *Gastroenterology* 145:113–120.
101. Zhu Y, Zhou X, Wu J, Su J, Zhang G. (2014). Risk factors and prevalence of *Helicobacter pylori* infection in persistent high incidence area of gastric carcinoma in Yangzhong city. *Gastroenterol Res Pract* 2014:481365.

## ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my gratitude

To the supervisors of the work, prof. Mārcis Leja and Jin Young Park, for the opportunity to begin the work in the first place, the inspiration to continue, and support and advice.

To my parents, prof. Inguna Ebela and assistant prof. Romualds Ražuks for their invaluable support during the long years of study, which was a crucial prerequisite for the thesis, advice on writing publications, as well as for editing of the doctoral thesis.

Prof. Ilva Daugule and Daiga Šantare on recommendations for writing the doctoral thesis, prof. Lilian Tzivian and Rolando Herrero for advice on writing publications.

Researcher Inese Poļaka for her support when learning analytical methods and further cooperation.

Participants of the GISTAR study research team for their cooperation within the framework of the study, which directly affected the completion of this work – Sergey Parshutin, Aiga Rūdule and others.

# APPENDICES

## Appendix 1

### Presentations at international scientific conferences with published abstracts

1. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Ebela I, Daugule I, Santare D, Sjomina O, Leja M. (2022). Effect of smoking on serum pepsinogen values modified by the presence of *Helicobacter pylori*. *European Journal of Clinical Investigation* 52(S11): 56th Annual Scientific Meeting, 8–10 June, 2022, Bari, Italy, 56ASM-0210, 169. <https://onlinelibrary.wiley.com/toc/13652362/2022/52/S1> ISSN 1365–2362.
2. Razuka-Ebela D, Polaka I, Ebela I, Daugule I, Herrero R, Leja M, Santare D, Sjomina-Gubareva O, Parshutin S. (2022). Reflux esophagitis associated with false negative cases in pepsinogen testing for precancerous gastric lesions. European Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG), Abstracts 2704–8845. *Microbiota in Health and Disease* 4(3):E735:68. <https://www.microbiotajournal.com/article/735>
3. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Ebela I, Daugule I, Santare D, Sjomina O, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2022). Current Smoking Associated with Precancerous Gastric Lesions “Missed” by Serologic Pepsinogen Testing. *Medicina (Shame)* 58(S1): International Scientific Conference on Medicine, 80th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga: Abstracts (2022):22. [https://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2022-1-Medicina.pdf](https://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2022-1-Medicina.pdf)
4. Razuka-Ebela D, Polaka I, Ebela I, Daugule I, Young Park J, Leja M (2021). Current smoking and *H. pylori* status associated with precancerous lesions “missed” by serologic pepsinogen testing. 34<sup>th</sup> International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer 18 September 2021. *Microb Health dis* 3:e612, P03.02, 50–51.
5. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Daugule I, Ebela I, Santare D, Sjomina O, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). Serologically determined gastric atrophy associated with lifestyle, dietary factors and *Helicobacter pylori* status. *United European Gastroenterology Journal* 8(S8): 28th United European Gastroenterology Week Virtual 2020, 228. [https://journals.sagepub.com/toc/uega/8/8\\_suppl](https://journals.sagepub.com/toc/uega/8/8_suppl) ISSN 2050–6406.
6. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Daugule I, Ebela I, Santare D, Sjomina O, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). Factors associated with gastric atrophy ‘missed’ by serologic testing. *United European Gastroenterology Journal* 2020, 8(S8): 28th United European Gastroenterology Week Virtual 2020, 230. [https://journals.sagepub.com/toc/uega/8/8\\_suppl](https://journals.sagepub.com/toc/uega/8/8_suppl) ISSN 2050–6406.
7. Park JY, Polaka I, Parshutin S, Kikuste I, Isaev S, Liepniece-Karele I, Daugule I, Ražuka-Ebela D, Knaze V, Downham L, Murillo R, Herrero R, Leja M. (2020). Results from the Pilot study of the multicentre randomised trial of *H. pylori* eradication and pepsinogen testing for prevention of gastric cancer mortality (the GISTAR Pilot study). 3rd Seoul International Symposium on *Helicobacter* and Upper Gastrointestinal Diseases (SI-HUG 2020) July 17–18, 2020, Seoul, Korea.
8. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Sjomina O, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). Presence and severity of symptom-based gastroesophageal reflux disease associated with levels of pepsinogen. *Medicina (Shame)* 56(S1): International Scientific Conference on Medicine, 78th International Scientific

Conference of the University of Latvia, Riga: Abstracts (2020):21. [http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2020-1-Medicina.pdf](http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2020-1-Medicina.pdf)

9. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Sjomina O, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). *Helicobacter pylori* infection, cardiovascular disease and its risk factors in Latvia. *Medicina (Shame)* 56(S1): International Scientific Conference on Medicine, 78th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga: Abstracts (2020):256. [http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2020-1-Medicina.pdf](http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2020-1-Medicina.pdf)
10. Alekseyeva J, Razuka-Ebela D, Daugule I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). Decreased pepsinogen level in relation to presence of menopause in the GISTAR study population in Latvia. *Medicina (Shame)*, 56(S1): International Scientific Conference on Medicine, 78th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga: Abstracts (2020):252. [http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2020-1-Medicina.pdf](http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2020-1-Medicina.pdf)
11. Alekseyeva J, Razuka-Ebela D, Daugule I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2020). *H. pylori* prevalence in individuals with allergic disease in the Latvian population. *Helicobacter* 25(S1): The Year in Helicobacter: 33rd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer 12 September 2020, EP7.07. <https://onlinelibrary-wiley.com.databases.lanet.lv/toc/15235378/2020/25/S1>
12. Alekseyeva J, Razuka-Ebela D, Daugule I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2019). Association between decreased level of pepsinogen with different dietary factors and *Helicobacter pylori* seropositivity. *Helicobacter* 24(S1): The Year in Helicobacter: 32nd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, Innsbruck, Austria, 5–7 September 2019, P4.18. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/hel.12647> ISSN 1083-4389
13. Rauk-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Herrero R, Park JY, Leja M. (2019). *Helicobacter pylori* infection is inversely associated with self-reported cardiovascular disease in the GISTAR study population in Latvia. *Helicobacter* 24(S1): The Year in Helicobacter: 32nd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, Innsbruck, Austria, 5–7 September 2019, P2.05. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/hel.12647>
14. Razuka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Tzivian L, Park JY, Leja M. (2019). Individual characteristics associated with *Helicobacter pylori* infection in the GISTAR study population in Latvia. *United European Gastroenterology Journal* 7(S8): 27th United European Gastroenterology Week Barcelona, Spain, October 2019:728–729. [https://www.ueg.eu/fileadmin/user\\_upload/documents/week2019/UEG2019\\_Abstract\\_book.pdf](https://www.ueg.eu/fileadmin/user_upload/documents/week2019/UEG2019_Abstract_book.pdf)
15. Alekseyeva J, Razuka-Ebela D, Daugule I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2019). *H. pylori* status and older age is more related to decreased pepsinogen level compared to different dietary factors. *United European Gastroenterology Journal* 7(S8): 27th United European Gastroenterology Week, Barcelona, Spain, October 2019:43. <https://ueg.eu/files/778/e07413354875be01a996dc560274708e.pdf>
16. Razuka-Ebela D, Ebela I, Zile I, Parshutin S, Tzivian L, Leja M. Factors associated with the eradication of *Helicobacter pylori* in the population of Latvia. (2018). *Helicobacter* 23(S1): 31st International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation



- and Cancer (EHMSG), Kaunas, Lithuania, 14–15 September 2018:59–60. <https://doi.org/10.1111/hel.12525>. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/hel.12525> ISSN 1083-4389.
17. Alekseyeva J, Razuka-Ebela D, Daugule I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2019). Decreased pepsinogen level in relation to presence of menopause in the GISTAR study population in Latvia. *Helicobacter* 24(S1): The Year in Helicobacter: 32nd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, Innsbruck, Austria, 5–7 September 2019:W1.7. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/hel.12647> ISSN 1083-4389.
  18. Razuka-Ebela D, Ebela I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. The prevalence of gastroesophageal reflux disease and its risk factors in Latvia. (2019). *Medicina (Shame)* 55(S1): International Scientific Conference on Medicine, 77th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, 22 February 2019: Abstracts (2019):56. [http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2019-1-Medicina.pdf](http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2019-1-Medicina.pdf)
  19. Razuka-Ebela D, Ebela I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2019). Association between gastroesophageal reflux disease, gastric atrophy and *Helicobacter pylori* infection in Latvia. *Medicina (Shame)* 55(S1): International Scientific Conference on Medicine, 77th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, 22 February 2019: Abstracts (2019):149. [http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts\\_2019-1-Medicina.pdf](http://medicina.lsmuni.lt/wp-content/uploads/pdf/Abstracts_2019-1-Medicina.pdf)
  20. Razuka-Ebela D, Ebela I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2018). The prevalence of gastroesophageal reflux disease and its risk factors in Latvia. 1st European Conference of Young Gastroenterologists “Challenges in Clinical Gastroenterology and Hepatology,” 6–9 December, 2018, Zagreb, Croatia. Zagreb: Croatian Society of Gastroenterology, 2018:191–192. <https://ecyg.eu/wp-content/uploads/2019/07/ECYG-2018-program-WEB.pdf>
  21. Razuka-Ebela D, Ebela I, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Murillo R, Herrero R, Park JY, Leja M. (2018). Association of gastroesophageal reflux disease, gastric atrophy and *Helicobacter pylori*. 1st European Conference of Young Gastroenterologists “Challenges in Clinical Gastroenterology and Hepatology,” 6–9 December 2018, Zagreb, Croatia. Zagreb: Croatian Society of Gastroenterology Zagreb, 2018. <https://ecyg.eu/wp-content/uploads/2019/07/ECYG-2018-program-WEB.pdf>
  22. Rauka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Tzivian L, Leja M. (2019). Sociodemographic, Lifestyle and Medical Risk factors for *Helicobacter pylori* infection in the GISTAR study population in Latvia. *Medicina (Shame)* 55(S1): International Scientific Conference on Medicine, 77th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, 22 February 2019: Abstracts (2019):57. <http://medicina.lsmuni.lt/international-scientific-conference-on-medicine/>
  23. Rauk-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2018). Association between eradication of *Helicobacter pylori* and a family history of cancer in the Latvian Population. 7th Annual International Scientific Conference “Medicine Pressing Questions” & Satellite Forum on Public Health and Healthcare Politics, 2–3 May 2018, Baku.
  24. Rauka-Ebela D, Zile I, Santare D, Polaka I, Parshutin S, Ebela I, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2018). Factors associated with being up-to-date with colorectal cancer screening in the Latvian population. Gastroenterology & Gastrointestinal Oncology Endorsed by European Society of Digestive Oncology (ESDO), 76th

International Scientific Conference on Medicine of the University of Latvia, 23 February 2018, Book of Abstracts. Riga: University of Latvia, 66. ISBN 978-9934-18-310-2.

25. Ražuka-Ebela D, Greenberg-Dērica I, Skendere I, Daugule I, Rūdule A, Rudzīte D, Chantare D, Polaka I, Ebela I, Murillo R, Young Park J, Herrero R, Leja M. Role of dietary habits in *Helicobacter pylori* infection in the Latvian population. Gastroenterology & Gastrointestinal Oncology Endorsed by European Society of Digestive Oncology (ESDO), 75<sup>th</sup> Scientific Conference of the University of Latvia – International Medical section 2017, Book of Abstracts. Riga: University of Latvia, 73. ISBN 978-9934-18-217-4.

### **Presentations at international scientific conferences without published abstracts**

26. Rauka-Ebela, Polaka I, Ebela I, Daugule I, Parshutin S, Santare D, Leja M. (2022). In search of a population tailored approach to improve the performance of pepsinogen testing for precancerous gastric lesions. European Association for Gastroenterology, Endoscopy and Nutrition (EAGEN). European Bridging Meeting in Gastroenterology, 11.11.2022, Kaunas, Lithuania.
27. Rauka-Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Daiga Š, Ebela I, Herrero R, Young Park J, Leja M. (2019). Analysis of factors associated with decreased pepsinogen in the GISTAR study population in Latvia. European Association for Gastroenterology, Endoscopy and Nutrition. European Bridging Meeting in Gastroenterology, Warsaw, Poland, 15–16.11.2019:1–2.

## Appendix 2

### The main factors (variables) obtained from the questionnaire and their coding

1. Sociodemographic factors – age, sex, nationality, level of education (primary or lower, upper secondary, professional vocational, higher), household income per family member after tax (under 250, 250–500, 500–1000, over 1000 Euros) and employment status (employed or self-employed, unemployed, retired).
2. Smoking – smokers, former smokers and never smokers.
3. Diet – consumption of at least 400g of fruits and vegetables daily during the past week (yes, no) according to WHO and FAO recommendations (WHO, 2003a), at least 200g of dairy products daily during the past week, daily consumption of poultry and red meat in portions (1 portion = 100g), consumption of hot foods and drinks, as well as spicy food (at least once a week). The food frequency questionnaire collected data on the daily consumption of products during an average week in the past year (with categories less than once a week, at least once a week, two to four times, five to seven times a week): fish, cottage cheese, kefir, eggs, legumes, meat products, cheese, poultry and red meat, fruits, vegetables, pickled, dried, salted and smoked products, onions and garlic, sweetened drinks, ground and instant coffee, green and black tea. In the course of the work the questionnaire was improved, it now also includes sweets, bread and cereals. Categories of drinks (coffee, tea, milk) have been converted into numerical values (cups per day) with the aim of assessing dietary patterns. Salt consumption has been evaluated as in the WHO and Finbalt questionnaire on nutrition – is extra salt added to already salted food (never, sometimes after tasting, always) (WHO, 2003b; Finbalt, 2007).
4. Alcohol consumption – according to the type and amount of alcohol (ml), the consumption of ethanol (in grams) per week was calculated. An additional category was created for binge drinking, grouping participants into three categories depending on how often 200g of alcohol is consumed (ethanol content of at least 40%) at one sitting in the past year (less than once a month, at least once a month) (Nugawela *et al.*, 2016).
5. Body mass index – < 18.5 kg/m<sup>2</sup> (reduced), 18.5–24.9 kg/m<sup>2</sup> (normal), 25.0–29.9 kg/m<sup>2</sup> (increased), and ≥ 30.0 kg/m<sup>2</sup> (obesity).
6. Physical activity – the data obtained through the questionnaire on the intensity and duration of physical activity at work and during free time were used to create categories of moderate intensity (at least 150 minutes per week) and intense (at least 75 minutes per week) physical activity at work and during free time, according to the WHO recommendations on the amount of physical activity needed to reduce the risk of developing non-communicable diseases (WHO, 2010).
7. Medical history – history of disease, drugs used in the last month (proton pump inhibitors, H<sub>2</sub> receptor antagonists, aspirin, antihypertensives, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and others), and a history of *H. pylori* eradication therapy more than one year ago.
8. Family history – cancer in relatives of the first (parents, sisters, brothers, children) and second degree (grandparents, aunts and uncles).
9. Gastrointestinal examinations (upper endoscopy, colonoscopy) and colorectal cancer screening during the past three years.

## Appendix 3

### Tables

**Table 1.** Sociodemographic factors in the study population and by *H. pylori* serology

Variables, n (%)	Study population, n = 1885	HP positive, n = 1044	HP negative, n = 841	p-value*
Sex (male)	711 (37.7)	406 (38.9)	305 (36.3)	0.24
Age (in years), Median, IQR	52.0 SKI 12	52.0 SKI 12	52.0 SKI 12	0.82
Education				
primary or lower (0–9 years)	77 (4.1)	50 (4.8)	27 (3.2)	0.03
upper secondary (10–12 years)	333 (17.7)	190 (18.2)	143 (17.0)	
professional vocational	860 (45.6)	490 (46.9)	370 (44.0)	
higher	615 (32.6)	314 (30.1)	301 (35.8)	
Income (EUR) <sup>a</sup>				
< 250	461 (28.1)	260 (28.3)	201 (27.9)	0.98
250–500	899 (54.9)	503 (54.8)	396 (55.0)	
>500	278 (17.0)	155 (16.9)	123 (17.1)	
Employment				
unemployed	145 (7.7)	80 (7.7)	65 (7.7)	0.56
employed	1555 (82.5)	865 (82.9)	690 (82.0)	
retired	100 (5.3)	58 (5.6)	42 (5.0)	
disabled	85 (4.5)	41 (3.9)	44 (5.2)	

\* Differences calculated using  $\chi^2$  test for comparing HP positive and HP negative groups.

HP– *Helicobacter pylori*, IQR – interquartile range, <sup>a</sup> household income per household member after tax.

**Table 2.** Lifestyle factors in the study population and by *H. pylori* serology

Variables, n (%)		Study population, n = 1885	HP positive, n = 1044	HP negative, n = 841	p-value*
Smoking	current smoker	398 (21.1)	243 (23.3)	155 (18.5)	< 0.01
	former smoker	364 (19.3)	218 (20.9)	146 (17.4)	
	never smoker	1120 (59.5)	582 (55.8)	538 (64.1)	
Binge-drinking <sup>a</sup>	never	1213 (64.4)	640 (61.3)	573 (68.1)	< 0.01
	less than once a month	246 (13.1)	141 (13.5)	105 (12.5)	
	at least once a month	426 (22.6)	263 (25.2)	163 (19.4)	
Body mass index (BMI)	≤ 24.9 kg/m <sup>2</sup>	451 (24.3)	258 (25.0)	193 (23.4)	0.36
	25–29.9 kg/m <sup>2</sup>	724 (39.0)	410 (39.7)	314 (38.1)	
	≥ 30.0 kg/m <sup>2</sup>	683 (36.8)	365 (35.3)	318 (38.5)	
At least 200 g dairy daily (past week)		1149 (61.0)	660 (63.2)	489 (58.1)	0.03

Variables, n (%)		Study population, n = 1885	HP positive, n = 1044	HP negative, n = 841	p-value*
At least 400 g of fruit and/or vegetables daily (past week)		1292 (68.5)	691 (66.2)	601 (71.5)	0.01
Very hot foods and/or drinks (past week)		449 (23.8)	273 (26.1)	176 (20.9)	0.01
Spicy food (past week)		392 (20.8)	230 (22.0)	162 (19.3)	0.14
Adding extra salt to food	never	1390 (73.7)	741 (71.0)	649 (77.2)	< 0.01
	sometimes or always	495 (26.3)	303 (29.0)	192 (22.8)	
Pickled products (days per week)	≤ 1	326 (17.3)	180 (17.2)	146 (17.4)	0.06
	2–3	416 (22.1)	232 (22.2)	184 (21.9)	
	4–5	1058 (56.1)	573 (54.9)	485 (57.7)	
	6–7	85 (4.5)	59 (5.7)	26 (3.1)	
Meat products (days per week)	≤ 1	284 (15.1)	159 (15.2)	125 (14.9)	0.05
	2–3	235 (12.5)	119 (11.4)	116 (13.8)	
	4–5	1035 (54.9)	562 (53.8)	473 (56.2)	
	6–7	331 (17.6)	204 (19.5)	127 (15.1)	
Eggs (days per week)	≤ 1	40 (2.1)	17 (1.6)	23 (2.7)	0.08
	2–3	144 (7.6)	72 (6.9)	72 (8.6)	
	4–5	1363 (72.3)	754 (72.2)	609 (72.4)	
	6–7	338 (17.9)	201 (19.3)	137 (16.3)	

\*Differences calculated using  $\chi^2$  test for comparing HP positive and HP negative groups.

HP- *Helicobacter pylori*.

<sup>a</sup>binge-drinking in the past year – having at least 200g of strong alcohol (equivalent to at least 40% ethanol) in one sitting.

**Table 3.** Factors associated with *H. pylori* in the study population in multivariate analysis, adjusted for age, sex and income

Variables	OR	95% CI	p-value
Education			
primary or lower (0–9 years)	1.38	0.79–2.41	0.25
upper secondary (10–12 years)	1.17	0.86–1.59	0.30
professional vocational	1.20	0.94–1.53	0.14
higher	1.00	–	
Smoking			
current smoker	1.34	1.01–1.78	0.04
former smoker	1.38	1.03–1.85	0.03
never smoker	Ref	–	
Binge drinking <sup>a</sup>			
never	Ref	–	
less than once a month	1.37	0.99–1.89	0.06
at least once a month	1.35	1.03–1.78	0.03
At least 200g dairy daily	1.37	1.11–1.69	<0.01

Variables	OR	95% CI	p-value
At least 400g fruit and/or vegetables daily	0.76	0.60–0.96	0.02
Very hot food/drinks	1.32	1.03–1.69	0.03
Adding extra salt to food	1.21	0.95–1.54	0.13
Pickled products			
less than once a week	Ref	–	
2–3 days	1.03	0.74–1.43	0.88
4–5 days	0.87	0.65–1.16	0.33
6–7 days a week	1.58	0.89–2.83	0.12
Meat products			
less than once a week	Ref		
2–3 days	0.79	0.53–1.16	0.22
4–5 days	0.81	0.60–1.09	0.17
6–7 days a week	1.05	0.72–1.53	0.79
<i>H. pylori</i> eradication (more than one year ago)	0.57	0.39–0.84	0.01
History of thyroid disease	0.79	0.58–1.08	0.14
History of cardiovascular disease	0.78	0.61–0.99	0.04
History of peptic ulcer disease	0.55	0.38–0.80	<0.01
History of glomerulonephritis	0.61	0.36–1.03	0.07

OR – odds ratio. CI – 95% confidence interval. ref – reference value.

<sup>a</sup>binge-drinking in the past year – having at least 200g of strong alcohol (equivalent to at least 40% ethanol) in one sitting.

**Table 4.** Multivariate regression model for a history of cardiovascular disease and positive *H. pylori* serology

Variables, n (%)	IA	95% CI	p-value
<i>H. pylori</i> serology positive	0.73	0.57–0.94	0.02
Age (in years)	1.09	1.07–1.11	< 0.001
Sex (male)	1.00	0.74–1.36	0.98
Level of education	0.92	0.46–1.86	0.82
Income level	0.67	0.45–1.00	0.05
Body mass index	1.11	1.08–1.13	< 0.01
Smoking	1.03	0.73–1.46	0.87
History of diabetes mellitus	2.84	1.52–5.31	< 0.01
History of peptic ulcer disease	0.76	0.49–1.19	0.23
Mean systolic blood pressure (mmHg)	1.03	1.02–1.04	< 0.01
At least 400g of fruit/vegetables daily	1.01	0.78–1.31	0.95
Adding extra salt to food	1.32	1.00–1.74	0.05
Moderate intensity physical activity < 150 min per day	1.31	0.97–1.76	0.08
Alcohol consumption (ethanol g/week)	1.00	1.00–1.00	0.69

OR – odds ratio. CI – 95% confidence interval. ref – reference value.

<sup>a</sup>binge-drinking in the past year – having at least 200g of strong alcohol (equivalent to at least 40% ethanol) in one sitting.

**Table 5.** Sociodemographic factors and *H. pylori* prevalence in the study population and by presence of serologically determined gastric mucosal atrophy

Variables, n (%)	Study population, n = 3001	Serological gastric atrophy, n = 231 (7.7)	No serological gastric atrophy, n = 2770 (92.3)	p-value*
Sex (male)	1108 (36.9)	85 (36.8)	1023 (36.9)	0.97
Mean age in years ± SD	52.1 ± 6.8	54.8 ± 6.5	52.4 ± 6.8	< 0.01**
Education				
primary or lower (0–9 years)	112 (3.7)	9 (3.9)	103 (3.7)	0.41
Upper secondary (10–12 years)	502 (16.7)	46 (19.9)	456 (16.5)	
professional vocational	1390 (46.3)	109 (47.2)	1281 (46.2)	
higher	997 (33.2)	67 (29.0)	930 (33.6)	
Employment				
unemployed	385 (12.8)	34 (14.7)	351 (12.7)	0.11
employed	2438 (81.2)	177 (76.6)	2261 (81.6)	
retired	178 (5.9)	20 (8.7)	158 (5.7)	
<i>H. pylori</i> by breath test (n = 2289)	1167 (51.0)	55 (32.4)	1112 (52.5)	< 0.01
<i>H. pylori</i> by serology (n = 2089)	1182 (56.6)	72 (48.3)	1110 (57.2)	0.04

\* Differences obtained using  $\chi^2$  test to compare the groups “serologically determined gastric mucosal atrophy” and “no serologically determined gastric mucosal atrophy” unless stated otherwise.

\*\*Differences obtained using *t-test for Equality of Means* comparing the groups “serologically determined gastric mucosal atrophy” and “no serologically determined gastric mucosal atrophy.”  
 HP – *Helicobacter pylori*, SD – standard deviation.

**Table 6.** Lifestyle factors and family history of gastric cancer in the study population and by the presence of serologically determined gastric mucosal atrophy

Variables, n (%)	Study population, n = 3001	Serological gastric atrophy, n = 231 (7.7)	No serological gastric atrophy, n = 2770 (92.3)	p-value*
Smoking				
current smoker	598 (19.9)	36 (15.6)	562 (20.3)	0.09
former smoker	572 (19.1)	39 (16.9)	533 (19.3)	
never smoker	1828 (61.0)	156 (67.5)	1672 (60.4)	
Alcohol consumption (median, ethanol g/week)	12.2 SKI 32.3	12.3 SKI 31.0	12.2 SKI 32.5	0.62**
Coffee				0.01
less than once a week	1391 (60.8)	90 (52.9)	1301 (61.4)	
1–6 times a week	344 (15.0)	23 (13.5)	321 (15.1)	
every day	554 (24.2)	57 (33.5)	497 (23.5)	

Variables, n (%)	Study population, n = 3001	Serological gastric atrophy, n = 231 (7.7)	No serological gastric atrophy, n = 2770 (92.3)	p-value*
Pickled products				0.08
less than once a week	1072 (36.3)	82 (35.8)	990 (36.3)	
once a week	901 (30.5)	77 (33.6)	824 (30.2)	
2–4 times a week	813 (27.5)	65 (28.4)	748 (27.5)	
5–7 times a week	167 (5.7)	5 (2.2)	162 (5.9)	
Onion and spring onion				0.01
less than once a week	175 (7.5)	6 (3.5)	169 (7.8)	
once a week	248 (10.7)	22 (12.9)	226 (10.5)	
2–4 times a week	863 (37.1)	50 (29.2)	813 (37.7)	
5–7 times a week	1039 (44.7)	93 (54.4)	946 (43.9)	
PPI during the past month	241 (8.0)	11 (4.8)	230 (8.3)	0.06
Family history of gastric cancer (1st and 2nd degree relatives)	341 (11.4)	15 (6.5)	326 (11.8)	0.02

The table lists only those factors related to lifestyle and medical history that were included in multivariate analysis.

\* Differences obtained by using  $\chi^2$  test to compare the groups “serologically determined gastric mucosal atrophy” and “no serologically determined gastric mucosal atrophy,” unless stated otherwise.

\*\*Differences obtained by using *Mann-Whitney U* test to compare the groups “serologically determined gastric mucosal atrophy” and “no serologically determined gastric mucosal atrophy.”

HP – *Helicobacter pylori*, PPI – proton pump inhibitors, IQR – interquartile range.

**Table 7.** Factors associated with serologically determined gastric mucosal atrophy, adjusted for sex, smoking, alcohol consumption, with *H. pylori* infection detected by breath test, excluding participants with any prior history of *H. pylori* eradication, n = 2120

Variables	OR	95% CI	p-value
Sex (male)	1.19	0.81–1.76	0.39
Age (in years)	1.05	1.02–1.08	0.001
Employment			
unemployed	Ref		
employed	0.83	0.52–1.34	0.45
retired	0.89	0.43–1.87	0.76
Level of education	0.90	0.73–1.12	0.35
Smoking			
never smoker	Ref		
former smoker	0.57	0.35–0.94	0.03
current smoker	0.70	0.43–1.16	0.17



Variables	OR	95% CI	p-value
Alcohol consumption (ethanol g/week). at 10g intervals	1.02	1.00–1.04	0.04
Coffee			
less than once a week	Ref		
1–6 times a week	1.01	0.61–1.67	0.97
every day	1.71	1.17–2.49	0.01
Onion			
less than once a week	Ref		
once a week	2.72	1.05–7.03	0.04
2–4 times a week	1.80	0.74–4.36	0.20
5–7 times a week	2.98	1.25–7.09	0.01
Pickled products			
less than once a week	Ref		
once a week	0.91	0.62–1.36	0.66
2–4 times a week	0.74	0.48–1.13	0.17
5–7 times a week	0.24	0.07–0.80	0.02
<i>H. pylori</i> infection ( <sup>13</sup> C-urea breath test)	0.39	0.28–0.56	< 0.01
PPI during the past month	0.48	0.24–0.98	0.04
Family history of gastric cancer (1st and 2nd degree relatives)	0.48	0.24–0.98	0.04

OR – odds ratio, 95% CI – 95% confidence interval, PPI – proton pump inhibitors, ref – reference value.

**Table 8.** Factors associated with serologically determined gastric mucosal atrophy, adjusted for sex, smoking, alcohol consumption, with *H. pylori* detected by serology, n = 2089

Variables	OR	95% CI	p-value
Sex (male)	1.14	0.76–1.70	0.53
Age (years)	1.05	1.02–1.08	< 0.01
Employment			
unemployed	Ref		
employed	0.79	0.48–1.28	0.33
retired	0.67	0.30–1.48	0.32
Level of education	1.02	0.82–1.28	0.86
Smoking			
never smoker	Ref		
former smoker	0.61	0.37–1.00	0.05
current smoker	0.62	0.37–1.06	0.08
Alcohol (ethanol g/week). at 10g intervals	1.02	1.00–1.05	0.02

Variables	OR	95% CI	p-value
Coffee			
less than once a week	Ref		
1–6 times a week	0.87	0.51–1.48	0.60
every day	1.60	1.07–2.37	0.02
Onion			
less than once a week	Ref		
once a week	4.25	1.39–13.00	0.01
2–4 times a week	2.58	0.89–7.50	0.08
5–7 times a week	4.59	1.59–12.00	0.01
Pickled products			
less than once a week	Ref		
once a week	0.96	0.65–1.44	0.86
2–4 times a week	0.63	0.40–0.99	0.05
5–7 times a week	0.19	0.04–0.78	0.02
<i>H. pylori</i> serology positive	0.67	0.48–0.95	0.02
PPI during the past month	0.57	0.29–1.12	0.10
Family history of gastric cancer (1st and 2nd degree relatives)	0.46	0.25–0.85	0.01

OR – odds ratio, 95% CI – 95% confidence interval, PPI – proton pump inhibitors, ref – reference value.

**Table 9.** Participants stratified according to the ABCD classification and the average age in each group

ABCD Group	n (%)	Age (median in years, IQR)
A. <i>H. pylori</i> negative no serological atrophy	738 (38.3)	52.9 SKI 12.0
B. <i>H. pylori</i> positive no serological atrophy	1049 (54.5)	52.0 SKI 12.0
C. <i>H. pylori</i> positive serological atrophy present	66 (3.4)	55.0 SKI 9.0
D. <i>H. pylori</i> negative serological atrophy present	73 (3.8)	55.0 SKI 10.5

HP- *Helicobacter pylori*, IQR – interquartile interval.

**Table 10.** Multivariate regression model comparing ABCD groups (n = 1926)

Variables	OR (95% CI), p-value		
	HP+, no serological atrophy (B)	HP+, serological atrophy present (C)	HP-, serological atrophy present (D)
Age	1.00 (0.99–1.02), 0.78	1.06 (1.02–1.11), 0.01	1.04 (1.00–1.09), 0.04
Sex (male)	0.98 (0.78–1.23), 0.86	1.18 (0.65–2.15), 0.58	1.08 (0.61–1.92), 0.79
Alcohol (g/week) at 10g intervals	1.01 (0.99–1.03), 0.38	1.04 (1.01–1.06), 0.01	1.02 (0.99–1.05), 0.26
Employed vs. unemployed	1.71 (1.03–2.84), 0.04	0.54 (0.14–2.12), 0.37	1.51 (0.53–4.34), 0.44
Education lower vs. higher	1.37 (1.09–1.71), 0.01	0.43 (0.05–3.58), 0.44	2.44 (0.72–8.24), 0.15
Current smokers vs. never smokers	1.08 (0.82–1.42), 0.58	0.60 (0.24–1.32), 0.19	0.73 (0.36–1.50), 0.39
Former smokers vs. never smokers	1.19 (0.92–1.55), 0.20	0.91 (0.45–1.82), 0.78	0.41 (0.18–0.94), 0.04
Coffee (less than once a week vs. every day)	0.97 (0.76–1.22), 0.78	2.31 (1.31–4.09), < 0.01	1.19 (0.66–2.13), 0.57
Pickled products (5–7 days vs. less than once a week)	1.54 (0.96–2.46), 0.07	0.50 (0.11–2.25), 0.36	0.69 (0.37–1.30), 0.25
Onions (5–7 days vs. less than once a week)	1.24 (0.85–1.80), 0.27	4.65 (0.98–21.93), 0.05	4.62 (1.08–19.81), 0.04*
PPI in past month	0.84 (0.59–1.19), 0.33	0.53 (0.18–1.56), 0.25	0.61 (0.23–1.60), 0.32
Family history of gastric cancer	1.02 (0.78–1.33), 0.91	0.37 (0.13–1.05), 0.06	0.56 (0.26–1.33), 0.20

Groups compared against group A (HP negative, no serological atrophy).

OR – odds ratio, adjusted to all factors in the model, 95% CI – confidence interval, HP – *Helicobacter pylori*, PPI – proton pump inhibitors, ref – reference value.

\*comparing 2–4 days a week vs. less than once a week

**Table 11.** Comparison of factors between false negative and true positive cases when using the pepsinogen test to detect precancerous gastric lesions

Variables. n (%)	Population (n = 1210)	True positives (n = 202)	False negatives (n = 157)	p-value*
Sex (male)	168 (46.8)	79 (39.1)	89 (56.7)	< 0.01
Age in years (median. IQR)	52.0 SKI 11.0	56.0 SKI 10.0	55.0 SKI 10.0	0.18**
Income (EUR)				0.01
< 250	116 (35.6)	54 (29.2)	62 (44.0)	
250–500	164 (50.3)	98 (53.0)	66 (46.8)	
500–1000	43 (13.2)	30 (16.2)	13 (9.2)	
> 1000	3 (0.9)	3 (1.6)	0 (0.0)	
Employment				0.97
unemployed	47 (13.1)	26 (12.9)	21 (13.4)	
employed	272 (75.8)	154 (76.2)	118 (75.2)	
retired	40 (11.1)	22 (10.9)	18 (11.5)	
Smoking				< 0.01
never smokers	208 (57.9)	134 (66.3)	74 (47.1)	
current smokers	80 (22.3)	26 (12.9)	54 (34.4)	
former smokers	71 (19.8)	42 (20.8)	29 (18.5)	
Alcohol (g/week)	11.9 SKI 31.4	10.12 SKI 24.4	12.8 SKI 45.4	0.06**
At least 400g of fruit/vegetables daily	194 (54.0)	118 (58.4)	76 (48.4)	0.06
At least 200g of dairy products daily	208 (57.9)	122 (60.4)	86 (54.8)	0.29
Onion and spring onion				
no more than once a week	40 (12.2)	22 (12.8)	18 (11.6)	0.05
2–4 times a week	135 (41.3)	62 (36.0)	73 (47.1)	
5–6 times a week	94 (28.7)	60 (34.9)	34 (21.9)	
every day	58 (17.7)	28 (16.3)	30 (19.4)	
Coffee				
no more than once a week	49 (13.7)	20 (9.9)	29 (18.6)	0.05
2–6 times a week	64 (17.9)	36 (17.8)	28 (17.9)	
every day	245 (68.4)	146 (72.3)	99 (63.5)	
PPI in the past month	26 (7.3)	12 (5.9)	14 (9.0)	0.27
History of HP eradication (more than a year ago)	24 (6.9)	6 (3.0)	18 (11.9)	< 0.01
HP by histology	205 (57.1)	94 (46.5)	111 (70.7)	< 0.01

\* Differences obtained using the  $\chi^2$  test to compare the false negative group with the true positive group.

\*\* Differences obtained using Mann-Whitney U test.

HP- *Helicobacter pylori*, PPI – proton pump inhibitors, IQR – interquartile interval.

**Table 12.** Multivariate regression model for factors associated with false negatives (n = 293)

Variables. n (%)	OR	95% CI	p-value
Sex (male)	0.94	0.51–1.74	0.85
Age	1.01	0.97–1.05	0.77
Income (EUR)			
< 250	Ref		
250–500	0.58	0.33–1.01	0.05
> 500	0.57	0.24–1.39	0.22
Smoking			
never smokers	Ref		
current smokers	3.22	1.57–6.58	< 0.01
former smokers	1.07	0.51–2.25	0.86
Alcohol consumption (g/week)	1.07	1.01–1.14	0.03
At least 400g of fruit/vegetables daily	1.03	0.60–1.75	0.93
Onion and spring onion			
no more than once a week	Ref		
2–4 times a week	1.62	0.72–3.64	0.24
5–6 times a week	0.90	0.38–2.14	0.81
Every day	1.43	0.57–3.58	0.45
Coffee			
no more than once a week	Ref		
2–6 times a week	0.65	0.26–1.63	0.36
every day	0.77	0.36–1.67	0.51
Body mass index	0.99	0.70–1.39	0.93
<i>H. pylori</i> infection (confirmed by histology)	2.54	1.50–4.28	< 0.01
PPI	1.05	0.40–2.76	0.93

Groups compared against the true positive group.

OR – odds ratio, adjusted to all factors in the model, CI – confidence interval, PPI – use of proton pump inhibitors in the last month, ref – reference value.