

НАДІЙНИЙ ЄВРОПЕЙСЬКИЙ ПАРТНЕР



СІНЕВО

медична лабораторія

Понад 140 лабораторних
центрів у 34 містах України

**>15'000 ЛІКАРІВ
ОБРАЛИ «СІНЕВО»**

Міжнародний
контроль якості

RIQAS
INTERNATIONAL

DGKL
GERMANY

ISO-9001
СИСТЕМА ЯКОСТІ

Найкраще світове
обладнання

Автоматизований
лабораторний процес



штрих-кодуювання зразків



ЛАБОРАТОРНІ ТЕСТИ

Більше ніж 1500
лабораторних тестів

9012 **Гастрин**

2161 **ГастроТест**

(5 показників; пенсиноген I, пенсиноген II,
пенсиноген I/пенсиноген II, гастрин 17 (базальний),
антитіла IgG до Helicobacter pylori)

1028 **Онкомаркер шлунка
(CA 72-4)**

5015 **Аналіз калу
на дисбактеріоз +
антибіотикограма**

0 800 50 70 30

безкоштовно зі стаціонарних телефонів по Україні

www.synevo.ua



facebook.com/SynevoLab

Добавляет
ценность диагноза



СИНЭВО
медицинская лаборатория

ЭКСПЕРТ В ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ

Дослідження шлункових сироваткових біомаркерів є досить привабливими для лікарів-практиків та пацієнтів завдяки очевидній перевазі над інструментальними обстеженнями – малоінвазивності. Вони стають альтернативою або фіброзофагогастродуоденоскопії (ФЕГДС) з біопсією слизової оболонки шлунка (СОШ), або зондовим методом дослідження шлункової секреції.

Сироваткові біомаркери можуть бути корисними в таких ситуаціях: при виявленні атрофічного гастриту, ідентифікації його субтипів (бактеріальний, а утоїмунний), що опосередковано пов'язано з первинною профілактикою раку; при скринінг-діагностиці онкологічних захворювань шлунка; у клінічному моніторингу перебігу вже діагнованих пухлин. Не виключається застосування біомаркерів і в проведенні функціональної діагностики шлункової секреції.

У 1915 році Paul Saxl вперше довів, що концентрація пепсиногену в крові безпосередньо пов'язана з інтенсивністю виділення шлункового соку. Після цього спостерігалася зростаюча зацікавленість низки дослідників, які намагалися впровадити в клінічну практику відповідні маркери. Вагомий внесок в розробку цих питань зробив американський гастроентеролог I. Michael Salmoff, якому вдалося визначити підклади пепсиногенів, значення їх перерозподілу та конкретні кореляції з шлунковою кислотністю.

Пепсиноген I (PGI) секретується в основному головними та частково шийковими клітинами слизової тіла й дна шлунка. Пепсиноген II (PGII) продукується залозами всієї СОШ, а також бруннеровими залозами дванадцятипалої кишки (ДПК). Ідентифіковано 7 ізоформ пепсиногену людини: з першого по п'ятий входять до групи PGI, шостий та сьомий – до групи PGII. Ці ізоформи розрізняються за молекулярною масою, електрофоретичною рухливістю. PGII становить усього 30% від загальної вмісту пепсиногенів у СОШ. Крім PGI і PGII, шлунок людини містить 3-й, імунохімічно відмінний пепсиноген, на частку якого припадає менше 5% протеолітичної активності.

Концентрації PGI, PGII та співвідношення PGI/PGII є основними індикаторами функціонального стану СОШ. Сироваткова концентрація PGI має сильний кореляційний зв'язок з кількістю та щільністю головних клітин у СОШ.

Дослідження шлункової секреції, зокрема кислотоутворюючої функції, є традиційною складовою діагностики хвороб шлунка. При цьому важливим є встановлення факту вкрай низької кислотності, яка може бути предиктором ризику розвитку раку шлунка, особливо на тлі наявного атрофічного гастриту. Адже саме атрофічний гастрит виявляють у 90% хворих на рак шлунка. Тому вважається, що своєчасна діагностика атрофії СОШ має бути першим етапом встановлення ризику щодо виникнення раку шлунка. Ґрунтується це положення на фундаментальних дослідженнях Р. Соггеа. Формування інтестинального раку шлунка закономірно проходить низку послідовних дискретних морфологічних стадій (так званий каскад Соггеа): поверхневий гастрит – атрофічний гастрит – метapлазія тонкокишечного типу – метapлазія товстокишечного типу – прогресуюча дисплазія й рак in situ, що завершується інвазивним раком. Цей процес перебігає зазвичай протягом 20-30 років. У людини з поширеною атрофією СОШ відносний ризик захворіти на аденокарциному в 30 разів більший, ніж у здорової.

За логікою викладеного слід очікувати високу кореляцію між показниками діагностики кислотоутворюючої функції СОШ та концентраціями пепсиногенів. Але проведені Derakhshan і співавт. порівняльні дослідження із залученням гістологічного методу, визначенням сироваткових PGI і PGII, кислотної продукції при аспіраційній титриметрії з максимальним гастринним тестом (MAO) показали доволі

скромні результати. Коефіцієнти кореляції Спірмена між MAO та PGI, а також співвідношенням PGI/PGII становлять $r=0,38$ та $r=0,30$ відповідно, що вірогідно пояснюється відомими методологічними недоліками зондової аспірації шлункового соку. Вирішення цих проблем за допомогою ендоскопічної аспірації на тлі пентагастринового тесту дозволили К. Іїїма отримати дещо кращі результати. Коефіцієнти кореляції з тими ж показниками становлять $r=0,40$ та $r=0,53$ відповідно.

Такі невисокі кореляційні зв'язки пояснюються тим, що кислотопродукція зумовлена загальною кількістю паріетальних клітин, а не головних, які продукують пепсиногени. При атрофічних процесах відбувається зменшення загальної кількості залоз і, відповідно, зменшення обох типів клітин. Водночас у загальній сукупності пацієнтів з гастритами переважають особи з нормальною або підвищеною кислотністю. Концентрація пепсиногенів у цих двох когортах особливо не відрізняється. За нашими спостереженнями, при пептичній виразці ДПК, коли очікується найбільш потужна шлункова секреція, вона навіть менша, ніж при гастроєзофагеальній рефлюксії хвороби (ГЕРХ). Сироваткові PGI та PGII є високочутливими маркерами виявлення атрофічних змін у шлунку, і при математичній оцінці зв'язку концентрації цих біомаркерів з кислотністю в підгрупі пацієнтів з гіпоацидністю зв'язок є надзвичайно вираженим. Причому одні дослідники вважають його більш суттєвим для PGI, а інші, переважно з азійських країн, – для співвідношення PGI/PGII.

Зв'язок концентрації пепсиногенів з шлунковою кислотністю потребує обговорення практично важливого аспекту – вплив на їхню концентрацію в сироватці при прийомі інгібіторів протонної помпи (ІПП), які є домінуючими в гастроентерологічній практиці, а хворі можуть їх приймати й самостійно. Наші власні спостереження довели факт суттєвого наростання концентрації PGI та PGII, пов'язаного з ацидоінгібуванням (рис. 1). Тому при визначенні цих біомаркерів варто відмінити ІПП, як це робиться при проведенні інтрагастральної рН-метрії. Утім, якщо розглядати цільову групу досліджень – хворих на атрофічний гастрит, у них через відсутність активної кислотопродукції не буде ані її пригнічення, ані закономірного наростання PGI та PGII. Отже, похибка саме в цих пацієнтів буде несуттєвою, особливо якщо йтиметься про показник співвідношення PGI/PGII.

«Стрибок» концентрації PGI ($>7,0$ мкг/л) при прийомі ІПП може бути використаний як критерій адекватного кислотоінгібування у хворих з нормо-гіперакцидністю, що значно покращує інформативність класичного ІПП-тесту.

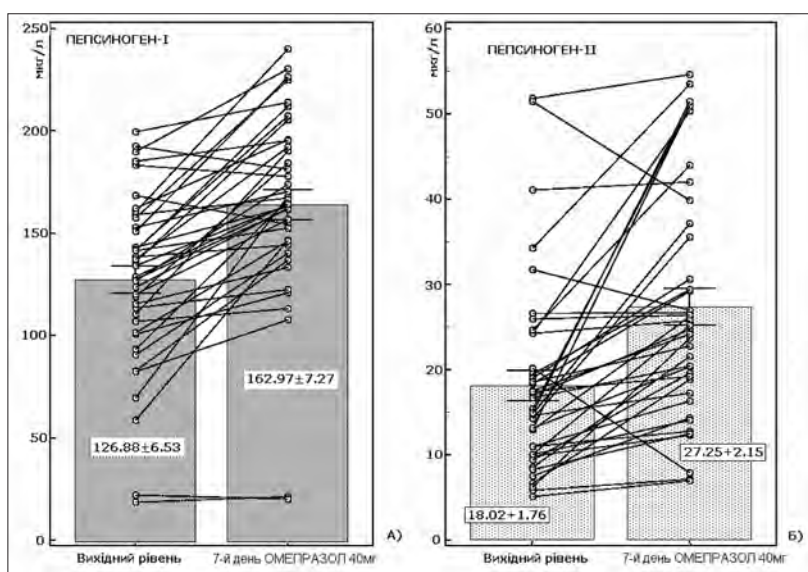


Рис. 1. Динаміка PGI (А) та PGII (Б) на тлі прийому омепразолу

Питання щодо ідентифікації атрофічних змін в антральному відділі шлунка на сьогодні вирішується за допомогою визначення гастрину-17 (G-17). G-17, або «малый гастрин», секретується G-клітинами антрального відділу СОШ. Він відрізняється від «великого гастрину» – гастрину-34, який виділяється клітинами підшлункової залози й не пов'язаний з атрофією СОШ. Висока кислотність пригнічує секрецію G-17. У здоровому шлунку білкова стимуляція та гіпоацидність призводять до збільшення рівня G-17. При прогресуючому або тяжкому атрофічному гастриті антрального відділу шлунка базальний рівень G-17 у сироватці є низьким, не спостерігається збільшення його концентрації й після стимуляції. Величина зниження концентрації G-17 і відповідь на стимуляцію залежать від ступеня атрофії: чим більше виражена атрофія, тим менше зростання рівня G-17. Також низький рівень G-17 натше (<1 пмоль/л) у осіб з нормальними показниками секреції, особливо при Нр-негативному статусі, може означати високу кислотність із ризиком розвитку тяжких форм ГЕРХ. На практиці цей біомаркер було застосовано фінськими дослідниками під керівництвом Р. Сірропен в середині 90-х років минулого століття. Вони ж, інтегрувавши визначення G-17 з PGI, PGII та дослідження антитіл до *Helicobacter pylori* (Hr), розробили комплексний діагностичний тест під назвою «ГастроПанель®», що поставляється компанією BioHit (рис. 2). Це обстеження є основою проведення так званої серологічної біопсії. Питання, наскільки вона є кращою за традиційну біопсію, залишається відкритим. При проведенні порівняльних досліджень «патогістологія – PGI, PGII» у більшості випадків чутливість щодо виявлення початкових стадій атрофії становить 75-95%, а специфічність – 84-93%. Інформативність G-17, за даними різних дослідників, варіює в більшому діапазоні, але в цілому принципово не відрізняється. Вважається, що у сироваткових біомаркерів перевага полягає в тому, що вони надають інтегративну оцінку функціонально-морфологічного стану СОШ. Водночас атрофічний процес СОШ є, як правило, вогнищевим, і тому не виключена ситуація отримання хибнонегативного результату при гастробіопсії з неуразеної ділянки. На думку експертів, сироваткові біомаркери менш інформативні, ніж звичайна біопсія, зокрема є окремі критичні публікації щодо практичного використання «ГастроПанелі» та аналогічних комерційних наборів. Утім, зацікавленість у використанні сироваткових біомаркерів невпинно зростає. Продовжуються наукові дослідження з пошуку оптимальних порогових рівнів біомаркерів, які є досить мінливі залежно від популяцій, в яких проводять спостереження. Можливо, доречним буде застосування не сталих порогових значень, а значень, які б змінювалися від співвідношень з іншими показниками, як, наприклад, це зроблено у «ГастроПанелі». Фактично там фігурує три порогові рівні G-17 та два для PGI (рис. 2). Великі дослідження щодо застосування біомаркерів проводяться в Китаї та Японії. Зокрема, в Японії PGI, PGII, G-17 входять до національних протоколів скринінгу передракових ушкоджень шлунка. Вочевидь, існують міжрасові та міжетнічні розбіжності щодо норми функціонального стану СОШ. Непрямим чином це відображається на рівнях захворюваності й вимагає проведення досліджень, які б враховували ці особливості.

Одним з таких факторів є ступінь ураження популяції Нр. Як відомо, Нр спричиняє розвиток хронічних гастритів, пептичної виразки й аденокарциноми шлунка. Тому в «ГастроПанелі» присутній тест ідентифікації в сироватці крові антитіл IgG до Нр. Це дає змогу з'ясувати

Продовження на стор. 18.

В.М. Чернобровий, С.Г. Мелашенко, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова; **К.В. Баранніков**, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, м. Київ

Атрофічний гастрит: використання сироваткових біомаркерів у діагностиці

Продовження. Початок на стор. 17.

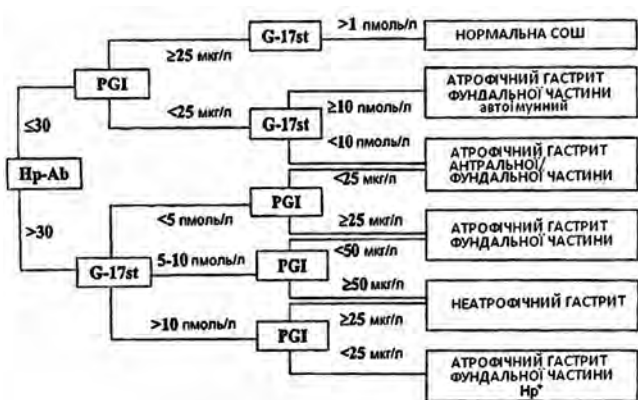


Рис. 2. Алгоритм виявлення уражень шлунка при тестуванні на «ГастроПанелі»

етіологію гастриту в 80% випадків (частота гастриту типу В у популяції). Причому відповідний титр антитіл зберігається навіть після випадкової ерадикації внаслідок прийому антибіотиків при супутніх інфекціях (бронхіти, гайморити, урогенітальні інфекції). У випадку коли клініцист визначається щодо необхідності виконання ерадикації Нр за показаннями, а вони згідно з рекомендаціями Маастрихтського консенсусу IV охоплюють практично всіх дорослих інфікованих осіб, актуальним є використання тестів на виявлення не антитіл до Нр, а антигенів. Для цього, наприклад, проводиться фекальний тест . Він же є методом контролю після ерадикації Нр.

Маркером високої вірулентності мікроорганізму є CagA (Cytotoxin-associated gene A)-протеїн, який до того ж вважається найбільш відповідальним фактором ризику розвитку аденокарцином. Він являє собою гідрофільний протеїн масою 128 кД, який зв'язується з епітеліальними клітинами та фосфорилується в ЕРІУ А-зоні, що й зумовлює підвищення ризику виникнення аденокарциноми. Швидкий уреазний тест , дихальні (C13-14) тести, тест на фекальний антиген не дають змоги ідентифікувати саме цей агресивний штам збудника. Реальним практичним кроком може бути визначення в крові антитіл IgA до CagA. Це дозволить клініцисту в деяких клінічних ситуаціях розширити показання щодо призначення ерадикаційної терапії, проводити її більш наполегливо з обов'язковим контролем якості такого лікування.

Стосовно ж атрофічного гастриту, то він може бути й не пов'язаним з інфікуванням Нр. Йдеться про а-утоімунний гастрит з продукцією антитіл до власних парієтальних клітин. Підозра на таке ураження може виникнути при виявленні в «ГастроПанелі» відсутності антитіл до Нр, зі зниженням рівнем $\text{PGI} < 50 \text{ мкг/л}$ або співвідношенням $\text{PGI/PGII} < 3$ та високим рівнем $\text{G-17} (> 10 \text{ пмоль/л})$, що свідчить про ураження саме фундальних залоз шлунка. Остаточню встановити це ураження допоможе безпосереднє визначення сироваткових антитіл до парієтальних клітин. Показаннями до такого дослідження також може бути виявлення інших а-утоімунних захворювань, які часто супроводжують цей вид гастриту (вітіліго, тиреоїдит, B_{12} -фолієводефіцитна анемія).

Зазначені вище дослідження – PGI, PGII, G-17, антитіла до Нр (комплекс «ГастроПанель®»), фекальний антиген Нр, антитіла до вірулентного *SagA+* штаму Нр, антитіла до парієтальних клітин – комплексно вирішують переважну частину практичних завдань етіологічної та функціональної діагностики гастритів. На сьогодні вони є доступними і в Україні завдяки мережі європейських медичних лабораторій «Сінево». Зважаючи на те, що явища гастриту можуть виникати в осіб без диспепсичних скарг або у хворих з ГЕРХ, подібні дослідження показані великій частині популяції. Слід наголосити на тому, що сироваткові біомаркери (PGI, PGII, G-17), спрямовані на виявлення атрофічних змін СОШ як передракової патології шлунка, є наразі суттєвою проблемою гастроентерології. Хоча й існує тенденція до зниження кількості злоякісних новоутворень шлунка в Україні, поганий прогностичний захворювань зумовлює високу смертність пацієнтів. За національною статистикою, смертність від раку органів травлення в два рази вища, ніж смертність від раку легені; в 5,5 разів вище, ніж смертність від раку молочної залози і злоякісних пухлин іншої локалізації. Нестандартизований показник захворюваності на рак шлунка в Україні у 2012 р. становив 24,7 на 100 тис. населення проти 28,3 у 2004 р. Смертність від цього захворювання за останніми даними національного канцер-реєстру (2012 р.) становить 18,4 на 100 тис. населення.

Блок-асоційовані маркери при карциномах органів травного тракту можуть визначатися в звичайних пробах крові рутинними біохімічними й імунохімічними методами. Серед таких маркерів слід згадати такі.

Раківий ембріональний антиген (РЕА) – глікопротеїн, який продукується травним апаратом плода. Після народження ген, відповідальний за синтез РЕА, супресується, що призводить до припинення синтезу цього білка. РЕА – загальний пухлинний маркер, і тому він відображає стан злоякісного процесу будь-якої локалізації (легені, молочні залози), але особливо виражене збільшення спостерігається при пухлинах травного тракту. РЕА є білком гострої фази, його рівень може підвищуватися у хворих з аутоімунними захворюваннями, хронічними гепатитами та цирозами печінки, при панкреатитах, пневмонії, запальних захворюваннях товстої кишки і т. ін. Надмірний рівень РЕА відзначається у здорових курців. Усе це свідчить на користь невисокої специфічності цього онкомаркера. Однак у всіх випадках, крім злоякісних новоутворень, рівень РЕА не перевищує двохразового збільшення норми (<10 мг/л) і нормалізується при клінічному одужанні або відмові від тютюнопаління. Помічено, що навіть на ранніх етапах формування пухлин збільшення концентрації РЕА має експонентний характер, тобто дуже швидко перевищує норму на порядки.

Інший глікопротеїн – СА 19-9 – також у нормі продукується клітинами епітелію шлунково-кишкового тракту плода. У незначних концентраціях СА 19-9 у нормі може виявлятися в дорослих у клітинах слизового епітелію, підшлункової залози, печінки й легенів. Нормальні значення СА 19-9 у сироватці крові дорослих не перевищують 37 од./мл. Цей маркер елімінує виключно через жовч, і тому навіть незначний холестаз істотно підвищує рівень СА 19-9 (норма <100 од./мл). У зв'язку з цим концентрація СА 19-9 може підвищуватися при холелітазі, гепатохолеститах, муковісцидозі.

Серед онкомаркерів відомий також глікопротеїн СА 72-4 (Tumor-Associated Glycoprotein – TAG 72). Він був ідентифікований за допомогою гістохімічних методик в аденокарциномах низки органів, включаючи карциному товстої кишки, шлунка, підшлункової залози. СА 72-4 можливо ідентифікувати при надібрінклітинному раку легень. У фізіологічних умовах СА 72-4 синтезується в епітелії стравоходу, шлунка й підшлункової залози плода та в дуже малих кількостях – в ендотеліальних клітинах дорослих людей. Концентрація маркера СА 72-4 у здорових людей не перевищує 2,5 МО/мл. Найбільш високі концентрації СА 72-4 спостерігаються в пацієнтів з аденокарциною шлунка. При критичному рівні 3 МО/мл СА 72-4 має специфічність 100% і чутливість від 32 до 48%, що дозволяє у спішно проводити диференціальну діагностику аденокарциноми шлунка в гастроентерологічних хворих. Характерно, що чутливість закономірно наростає з прогресуванням стадії раку – 31, 48, 68% та 88% пацієнтів відповідно від I до IV стадії хвороби. Отже, СА 72-4 є онкомаркером, перспективним для моніторингу перебігу захворювання й ефективності терапії при аденокарциномі шлунка.

Умовно всі перераховані онкомаркери відомі як «онко-фетальні». У цілому їх застосування обмежене, оскільки вони недостатньо специфічні для будь-якої однієї пухлини або типу пухлин, а їх присутність у крові безпосередньо залежить від біологічної маси клітин пухлини. Вважається, що ці біомаркери не стільки підходять для скринінгу карциноми, скільки для визначення прогнозу й моніторингу захворювання, ранньої ідентифікації метастазів і рецидивів пухлини. Наприклад, у дослідженнях із визначення сироваткових онкомаркерів у хворих з верифікованим діагнозом раку шлунка чутливість цих тестів була невисокою, зокрема PEA – 24,2%; CA 19-9 – 41%; CA 72-4 32,6%.

Сироваткові онкомаркери є непрямим методом діагностики метастазів раку шлунка, що може бути вирішальним при визначенні показань для хірургічного лікування. Цікаво, що одночасне зростання у сіх трьох онкофетальних маркерів при раку шлунка не відбувається. Але синхронне підвищення двох будь-яких онкомаркерів (PEA, CA 19-9, CA 72-4) вказує на метастазування карциноми шлунка з імовірністю більше 72-83,3%. Зростання концентрації одного з пухлинних маркерів не є діагностично значущою ознакою метастазування. Виняток становить тільки PEA, зростання якого більш як у 1,5 рази свідчить про наявність метастазів з імовірністю 80,0%, але за умови відсутності тютюнопаління, запальних процесів у організмі та інших чинників. Тільки для онкомаркера

СА 72-4 доведена достатня інформативність у якості предиктора незадовільного прогнозу.

Дещо вища чутливість, ніж у попередніх онкомаркерів, спостерігається при визначенні принципово іншого онкомаркера — метаболічного Суфра 21-1. Це відносно новий маркер, який визначається за допомогою двох моноклональних антитіл, спрямованих проти певного фрагмента цитокератину 19. Імуногістохімічні дослідження показують, що цитокератин 19 міститься в переважній більшості пухлин. У крові підвищені концентрації Суфра 21-1 виявляють при недрібноклітинній карциномі легень, раку матки, деяких пухлинах голови й шиї. Клінічна значущість наростання сироваткових титрів Суфра 21-1 при раку шлунка вивчається. Сама чутливість при аденокарциномі I-III стадій низька — до 6%, але при метастазуванні в очеревину, легені, печінку, регіональні лімфовузли спостерігається кількісно-якісний стрибок і, таким чином, у хворих з IV стадією раку, тест виявляється позитивним у 2/3 випадків. Подібне явище характерне й для рецидивів раку в раніше пролікованих (прооперованих) пацієнтів. Японськими дослідниками під керівництвом В. Nakata був визначений пороговий рівень патологічного зростання Суфра 21-1 (>5 нг/мл, а також обґрунтована висока специфічність тесту. При інших гастроентерологічних захворюваннях (в основному при цирозі печінки) хибнопозитивні результати спостерігаються лише в 2,6%.

Онкологи рекомендують моніторинг онкомаркерів у такій послідовності: 1) до початку специфічного лікування; 2) після виконання радикальної операції на 7-10-й день; 3) після завершення курсу хіміо- або радіотерапії; 4) з інтервалом три місяці впродовж одного (двох) років лікування; 5) з інтервалом 6 місяців впродовж наступних років диспансерного спостереження; 6) при підозрі на рецидив або метастазування.

Хоча перші сподівання щодо специфічності й чутливості більшості з 200 ідентифікованих науковцями онкомаркерів не виправдалися, раціональний підхід до використання цих тестів та їх комбінацій, а також зважена інтерпретація результатів забезпечать неухильне зростання клінічної значущості цього розділу діагностики. На сьогодні тривають пошуки нових онкомаркерів, які могли б не тільки констатувати наявність метастазів, а й бути інструментом раннього виявлення злоякісних пухлин. Наприклад, вважається перспективним визначення рівнів експресії вільнорозчинних форм рецепторів епідермального фактора росту (EGFR) та судинного ендотеліального фактора росту (VEGFR). У цьому випадку достатньо залучення до традиційної технології імуоферментного аналізу принципово нових методів. Основний пошук науковців спрямований на вивчення молекулярно-генетичної картини, а саме: зміни в онкогенах p53 (5,6,7,8 ex), C-kit, B-Raf, APC, K-ras, E-cadherin, DPDY, p16. Тут необхідно застосовувати найсучасніші методики полімеразної ланцюгової реакції. У Китаї активно вивчається залучення до скринінг-діагностики раку шлунка процесу ушкодження ДНК внаслідок метилювання. Методом мас-спектрометрії з високою роздільною здатністю австралійським дослідникам вдалося довести високу інформативність щодо ранньої діагностики раку шлунка комплексної оцінки нових біомаркерів – афаміну, кластерину, гаптоглобіну й вітамін D-зв'язуючого білка (vitamin D binding protein). Оригінальний підхід до ранньої діагностики запропонований минулого року в Китаї із застосуванням аспіратів шлункового соку. Виявилося, що у 70% хворих на рак шлунка спостерігається підвищення експресії довгої некодуючої РНК lncRNA-AA174084.

Таким чином, широкі впровадження в роботу гастроентерологів, онкологів та сімейних лікарів України сироваткових біомаркерів для діагностики атрофічного гастриту та спорідненої патології є нагальним практичним завданням. На жаль, відсутність власної потужної виробничої бази призвело до того, що більшість таких обстежень виконуються лише як фрагменти науководослідних розробок з ініціативи самих науковців. Досить складною є система ліцензування комерційних тестів для наших лабораторій. У цьому ключі слід надати належне мережі лабораторій «Сінево», яка змогла вирішити ці логістичні проблеми та забезпечити українських лікарів та їхніх пацієнтів якісними європейськими тестами, що дозволяє вивести діагностику та контрольоване лікування на сучасний рівень.

Список літератури знаходиться в редакції.