



УКРАЇНА

(19) UA (11) 13903 (13) U
(51) МПК (2006)
G01N 33/53МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РИЗИКУ РОЗВИТКУ РАКУ ШЛУНКА У ОСІБ, ІНФІКОВАНИХ *H. PYLORI*

1

2

(21) u200510705

(22) 14.11.2005

(24) 17.04.2006

(46) 17.04.2006, Бюл. № 4, 2006 р.

(72) Чернявський Віталій Іллєч, Бірюкова Світлана Василівна, Крестецька Світлана Леонідівна, Мартинов Артур Вікторович, Смілянська Майя Володимирівна, Біляєвська Світлана Юліївна, Перемот Світлана Дмитрівна, Драч Максим Іванович, Клімов Олег Іванович

(73) Чернявський Віталій Іллєч, Бірюкова Світлана Василівна, Крестецька Світлана Леонідівна, Мартинов Артур Вікторович, Смілянська Майя Володимирівна, Біляєвська Світлана Юліївна, Перемот Світлана Дмитрівна, Драч Максим Іванович, Клімов Олег Іванович, ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ІМ. І.І. МЕЧНИКОВА АМН УКРАЇНИ

(57) 1. Спосіб прогнозування ризику розвитку раку шлунка у осіб, інфікованих *H. pylori*, який **відрізняється** тим, що підвищення ризику констатують при наявності тенденції до зниження (на 33 % та більше) кількості лейкоцитів, лімфоцитів субпопуляцій CD3, CD4, CD8 та CD16, секреторного показника SIgA, показників реакції бласттрансформації лімфоцитів РБТЛ та НСТ-тесту при одночасному збільшенні (на 33 % та більше) рівнів сироваткових імуноглобулінів IgG, IgA та циркулюючих імунних комплексів ЦІК.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що імунологічне дослідження проводять щонайменше двократно, а за умови відмінності отриманих значень на величину, що складає більше ніж 30 % від значення цього параметру в нормі, щонайменше трикратно.

Корисна модель належить до гастроентерології та онкології і стосується способу прогнозування ризику розвитку раку шлунку в певній категорії пацієнтів, а саме в осіб, інфікованих *Helicobacter pylori* (далі НР).

Чисельні клінічні, експериментальні та епідеміологічні дані, отримані в останні десятиріччя свідчать про наявність зв'язку між колонізацією НР слизової оболонки шлунку та ініціацією канцерогенезу. Зокрема доведено, що існує жорстка кореляція між інфікованістю на НР та захворюваністю на рак шлунку [1, 2, 3]. Показано, що ерадикаційна терапія, у певних випадках здатна гальмувати прогресування передракових станів (атрофії, метapлазії та дисплазії епітелію слизової оболонки шлунку) [4, 5, 6]. Встановлені закономірності патогенезу цієї інфекції дозволяють віднести НР до канцерогенів [7, 8, 9]. Зокрема виявлено, що інфікування НР призводить до надмірної активації процесів клітинної проліферації в генеративній зоні слизової оболонки стінки шлунку (відсоток клітин, що знаходяться в S-фазі клітинного циклу зростає з 33 до 79%). За таких умов знижується ефективність внутрішньоклітинних механізмів репарації пошкоджень ДНК та порушується баланс між проліферацією та апоптозом. Оскільки, відпо-

відно до сучасних уявлень, універсальним механізмом онкогенезу є трансформація хронічного мутогенезу в мутагенез, - НР має класичні ознаки канцерогену (на сьогодні це єдиний бактеріальний агент, що має такий статус).

Попри все наведене вище, НР є лише одним з можливих промоторів злоякісної трансформації: онкопатологія виникає лише у 1-3% НР інфікованих, а 20-30% випадків захворювання на рак шлунку взагалі не пов'язано з цією інфекцією. Тим не менш, розповсюдженість НР (загальний рівень інфікованості людської популяції перевищує 50% [10]) робить врахування онкогенного потенціалу цієї інфекції актуальною медичною проблемою.

Відомий спосіб прогнозування раку шлунку за зростанням сироваткового рівня пухлинно-асоційованого інгібітора трипсину (TATI - tumour-associated trypsin inhibitor, 6-kDa), що свідчить про активацію механізмів пригнічення тканинної деградації [11]. Цей спосіб, як і більшість відомих способів прогнозування ризику розвитку раку, що оснований на детекції маркерів, які експресуються в пухлинній тканині [9, 12, 13], дозволяють прогнозувати скоріше виявлення вже існуючого онкопроцесу, ніж ризик його виникнення.

(19) UA (11) 13903 (13) U

Відомий спосіб ранньої діагностики раку шлунку [14], що базується на детекції підвищеного рівня експресії циклоксигенази (Cyclo-oxygenase-2 (COX-2)) та/або mRNA Cox-2), в зразках тканини слизової оболонки шлунку. Цей показник має безпосереднє відношення до патофізіології процесів запалення, репарації та канцерогенезу. Відповідно до корисної моделі, виявлення надмірної експресії Cox-2 свідчить про підвищений ризик розвитку інтестинального типу раку шлунку. Отриманню бажаного технічного результату заважає той факт, що цей показник підвищується під впливом HP-інфекції незалежно від наявності передракових станів. До недоліків цього методу слід також віднести його інвазивність та рівень доступності в умовах вітчизняної системи організації медичного сервісу.

Найближчим (за рівнем доступності) аналогом рішення, що заявляється, є спосіб прогнозування високого ризику розвитку раку шлунку у осіб, інфікованих HP на основі анамнестичних даних стосовно існування цієї патології в родині. Цей метод враховує можливу наявність генетичної схильності та високу вірогідність інфікованості членів однієї сім'ї одним штамом, що може мати підвищені патогенні та канцерогенні властивості. Безумовною перевагою цього підходу є і відсутність будь-яких витрат на прогнозування, але низький рівень об'єктивності та диференційованості підходу знижує його цінність. Крім того, він не придатний для оцінки ризику розвитку раку шлунку у HP-інфікованих осіб без обтяженого родинного анамнезу.

В основу корисної моделі було поставлено задачу: розробити спосіб прогнозування ризику розвитку раку шлунку у осіб, інфікованих HP на основі об'єктивних критеріїв, що характеризують стан імунологічної резистентності організму, в якому за рахунок визначення найбільш інформативних імунологічних показників, забезпечити об'єктивність та достовірність прогнозу.

Для пояснення поставленого завдання та шляхів його розв'язання вважаємо за необхідне акцентувати увагу на наступному. Однією з ключових функцій імунної системи, що забезпечує підтримку біологічного гомеостазу, є своєчасне виявлення та елімінація дефектних, потенційно злоскісних клітин. В організмі клінічно здорової людини рівень цитогенетичних змін варіює та може суттєво зростати під впливом різноманітних фізичних, хімічних або біотичних факторів. І, якщо адекватна реакція імунної системи на спонтанний мутагенез лежить в межах її фізіологічного навантаження, то реакція на індукований (зокрема хронічною HP-інфекцією), може призвести до функціональної декомпенсації із відповідними наслідками для організму. За таких умов вірогідність виникнення злоскісного новоутворення шлунку у людини, інфікованої HP визначається, на наш погляд, головним чином, компенсаторним потенціалом та функціональним станом імунної системи.

Проведені дослідження були спрямовані саме на виявлення інформативних критеріїв оцінки змін в стані імунітету, що виникають під впливом хронічної HP інфекції та визначення ознак функціональної декомпенсації імунної системи у хворих на рак шлунку, асоційований з цим патогеном.

Поставлена задача вирішена наступним чином.

1. Виявлені характерні ознаки порушення імунного статусу (1C) у хворих на рак шлунку.

2. Проведено дослідження змін імунного статусу HP-інфікованих осіб, що не страждають на рак шлунку.

3. Визначено основні тенденції розвитку імунологічних порушень та найбільш інформативні прогностичні критерії.

Порівняльний аналіз стану імунітету (CI) у осіб з HP - обумовленими хронічним гастритом, виразковою хворобою та раком шлунку дозволило виявити наступні прогностично цінні параметри: кількість лімфоцитів (Л), кількісний та якісний склад популяції лімфоцитів (CD4, CD8, CD16), реакція бласттрансформації лімфоцитів у відповідь на антигенний стимул (РБТЛ), рівні сироваткових імунoglobulinів (IgA, IgG), секреторний IgA (SIgA), рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), фагоцитарна активність за показником НСТ-тесту (НСТ). Означений перелік параметрів дозволяє значно скоротити програму імунологічного дослідження та є цілком доступним для здійснення в умовах клініко-діагностичної лабораторії лікувального закладу з мінімальним рівнем забезпечення обладнанням та реактивами.

Для більш лаконічного викладення основних тенденцій та діапазонів коливань наведених прогностичних критеріїв застосовано формули розладів імунної системи (ФРІС), в яких знаками „+/-“ відображено тенденцію до збільшення/зменшення показника, цифрами позначено ступінь зміни величини показника у порівнянні із нормою (1-<33%, 2-33-66%, 3->66%). За обраними параметрами особливості та діапазони змін імунного статусу HP-інфікованих осіб з відмінним рівнем ризику характеризуються наступними ФРІС:

Л₁-, CD4₁-, CD8₁-, IgG₁+, IgA₂+, SIgA₂-
(відповідає низькому рівню ризику розвитку раку шлунку)

Л₁-, CD4₂-, CD8₂-, IgG₂+, IgA₂+, SIgA₂-
(відповідає підвищеному ризику розвитку раку шлунку)

Л₂-, CD4₃-, CD8₃-, CD16₂-, РБТЛ₂-, IgG₃+, IgA₂+, SIgA₃-, ЦІК₃+, НСТ₂-

(відповідає надзвичайно високому ризику розвитку раку шлунку).

Таким чином, до суттєвих ознак способу, що заявляється належать: ступінь зменшення загальної кількості та функціональної активності лейкоцитів та лімфоцитів субпопуляцій CD3, CD4, CD8, CD16, підвищення рівня сироваткових IgG, IgA та ЦІК, при зниженні SIgA. Підвищення ризику виникнення раку шлунку у осіб, інфікованих HP констатують за наявністю тенденції до зниження кількісних, якісних та функціональних параметрів, що характеризують стан клітинної ланки імунітету, при одночасному виявленні ознак підвищення функціональної активності гуморальної ланки імунітету, за виключенням системи забезпечення синтезу SIgA. Зокрема, відповідно до способу, що заявляється, прогнозування підвищеного ризику здійснюється за фактом зниження (на 33% та більше) кількості лейкоцитів, CD3-,CD4-, CD8- та CD 16-лімфоцитів, SIgA, показників РБТЛ та НСТ, при

одночасному збільшенні (на 33% та більше) IgG, IgA та ЦІК.

Крім того, до суттєвих ознак рішення, що заявляється належить кратність обстеження (що зменшує вплив випадкових коливань імунологічних параметрів та підвищує достовірність прогнозу). Опит застосування методу свідчить про доцільність щонайменш двократного дослідження кожного з параметрів, а за умови відмінності отриманих значень на величину, що складає більш ніж 30% від значення цього параметру в нормі - доцільне 3-кратне обстеження.

Перелік посилань:

1. Eslick GD, Lim LL, Byles JE, Xia HH, Talley NJ. Association of *Helicobacter pylori* infection with gastric carcinoma: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:2373-9.
2. *Helicobacter* and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut* 2001; 49: 347-53.
3. Asaka M, Kudo M, Kato M, Sugiyama T, Takeda H. Review article: Long-term *Helicobacter pylori* infection -from gastritis to gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12:9-15.
4. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, Lai KC, Ni WH, Yuen ST, Leung SY, Fong DY, Ho J, Ching CK, Chen JS; China Gastric Cancer Study Group. *Gastroenterology*. 2004 Jul;127(1):344-6;
5. El-Omar EM, Oien K, Murray LS, et al. Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: critical role of *H. pylori*. *Gastroenterology* 2000;118; P.22-30.
6. Ito M, Haruma K, Kamada T, et al. *Helicobacter pylori* eradication therapy improves atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a 5-year

prospective study of patients with atrophic gastritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1449-56.

7. Correa P. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. *Am J Surg Pathol* 1995; 19: S31-43.
8. Tahara E. Molecular mechanism of human stomach carcinogenesis implicated in *Helicobacter pylori* infection. *Exp Toxicol Pathol* 1998; 50: 375-8.
9. Nardone G, Rocco A, Vaira D, et al. Expression of COX-2, mPGE-synthase, MDR-1 (P-gp), and Bcl-xL: a molecular pathway of *Helicobacter pylori*-related gastric carcinogenesis. *J Pathol* 2004; 202: 305-12.
10. Danesh J. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer: systematic review of the epidemiological studies. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 851-6. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-5.
11. Patent number: CN1250523 Diagnosis of early gastric cancer. Applicant: LOCUS GENEX OY (FI) Publication date: 2000-04-12.
12. Patent number: W00206327 A METHOD FOR PROGNOSING CANCER AND THE PROTEINS INVOLVED Applicant: UNIV NORTHWESTERN (US); WANG ZHOU (US); XIAO WUHAN (US) Appl.No: W02001US22357 20010717; Publication date: 2002-01-24.
13. Expression of Tie-1 and 2 receptors, and angiopoietin-1, 2 and 4 in gastric carcinoma; immunohistochemical analyses and correlation with clinicopathological factors. T Nakayama, A Yoshizaki, N Kawahara, A Ohtsurul, C Y Wen, E Fukuda, M Nakashima2 & I Sekine //Histopathology. - Volume 44 Issue 3 Page 232 - March 2004.
14. Wiksten J-P, Lundin J, Nordling S, Kokkola A, Stenman U-H & Haglund C.I I Histopathology, 2005. - V.46. - P.380.