



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **52600** (13) **U**  
(51) МПК (2009)  
G01N 33/50МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ**ОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ АТРОФІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГАСТРИТ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ПЕЧІНКИ ТА ЖОВЧОВИДІЛЬНИХ ШЛЯХІВ**

1

2

(21) u201006080

(22) 20.05.2010

(24) 25.08.2010

(46) 25.08.2010, Бюл. № 16, 2010 р.

(72) СВИНЦІЦЬКИЙ АНАТОЛІЙ СТАНІСЛАВОВИЧ,  
СОЛОВЙОВА ГАЛИНА АНАТОЛІЇВНА, ДОЛГАЯ  
НАДІЯ ЄВГЕНІЇВНА(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ(57) Спосіб діагностики атрофії слизової оболонки  
шлунка у хворих на хронічний гастрит при захво-

рюваннях печінки та жовчовидільних шляхів, що включає визначення наявності в крові інфекції *Helicobacter pylori*, який **відрізняється** тим, що додатково шляхом імуноферментного аналізу визначають рівень стимульованого гастрину-17 та пепсиногену I і при показниках рівня стимульованого гастрину-17 менше 5 пмоль/л діагностують атрофію антрального відділу шлунка середнього чи тяжкого ступеня, а при показниках рівня пепсиногену I менше 25 мкг/л - атрофію тіла шлунка середнього чи тяжкого ступеня.

Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, може бути використана в гастроентерології та терапії та є способом діагностики стану слизової оболонки шлунка у хворих на хронічний гастрит при захворюваннях печінки та жовчовидільних шляхів (наявності та локалізації атрофії, факту інфікування *Helicobacter pylori*), який здійснюють шляхом імуноферментного аналізу крові (ІФА).

Не викликає сумнівів, що відкриття у 80-90 роках XX століття J.R. Warren та B.J. Marshall мікроорганізму *Helicobacter pylori*, було однією з революційних подій у гастроентерології (5). Значення *Helicobacter pylori*, як однієї з причин хронічного гастриту також не підлягає сумніву (1). У міжнародну класифікацію гастритів, хелікобактерний гастрит занесений у 1990 р., як гастрит асоційований з *Helicobacter pylori* (гастрит типу «В», активний хронічний гастрит) (9).

З однієї сторони, *Helicobacter pylori* розглядається як частина нормальної бактеріальної флори шлунково-кишкового тракту, яку не завжди потрібно елімінувати зі слизової оболонки шлунка. Цією інфекцією заражена майже половина людства (10). З іншої сторони, майже у 50 % осіб, інфікованих *Helicobacter pylori*, розвивається атрофічний гастрит, який у більшості випадків призводить до раку шлунка та у 90 % випадків буде причиною розвитку виразкової хвороби. Ерадикація інфекції *Helicobacter pylori* призводить до виліковування атрофічного гастриту.

Відповідно зменшується чи повністю зникає ризик розвитку захворювань, які пов'язані з атрофічним гастритом (8, 11).

Зв'язок між розвитком патології шлунка і дванадцятипалої кишки та змінами у печінці, відомий давно. Так, ще у 1937 році, Н. Eppinger описав зміни у слизовій оболонці шлунка і тонкої кишки при цирозі печінки та зв'язав їх із впливом на слизову оболонку токсичних метаболітів, які надходять із кишки. В 1946 році D. Jahn, проаналізувавши понад 1000 аутопсій, ввів термін «гепатогенна виразка» та описав чітку етіопатогенетичну залежність між цирозом печінки та гастродуоденальними виразками (2, 3, 6). У США 2-3 % усіх трансплантацій печінки виконується у хворих на стадії декомпенсованого цирозу печінки.

Отже, до проблеми діагностики хронічних гастритів, треба відноситись комплексно.

Відомим і одним із основних методів розпізнавання хронічних гастритів є ендоскопія (гастроскопія у поєднанні з множинною сходишковою біопсією) 4-6-8 біоптатів по ходу малої кривизни, а також з передньої та задньої стінок на різних рівнях органу (4). Але цей метод діагностики є інвазивним, неприємним для пацієнта, не завжди доступним та несе в собі великий ризик ятрогенної передачі інфекції *Helicobacter pylori* під час проведення процедури (5, 10). Приблизно у 1/3 обстежених методом гастроскопії, слизова оболонка шлунка виявляється у межах

(13) **U**(11) **52600**(19) **UA**

норми, тобто у пацієнта мають місце симптоми диспепсії.

Відомі способи діагностики інфекції *Helicobacter pylori* (7) за допомогою:

- швидкого уреазного тесту: зручний метод діагностики, але виконується лише під час проведення гастроскопії, недорогий, але недостатньо точний;

- бактеріологічного методу: шляхом висівання вмісту біоптату слизової оболонки; дозволяє визначити чутливість до антибіотиків, але є технологічно складним, тривалим та дорогим;

- цитологічного методу: потребує обробки та викрашення біоптату, забезпечує гістологічну інформацію, але є дорогим, трудомістким, тривалим та потребує підготовки лікаря-лаборанта;

- дихального тесту: можна використовувати для ранньої діагностики, простий, швидкий, але дорогий;

- cito test *Helicobacter pylori* Ag у зразках фекалій: тест є однокроковим імунохроматографічним аналізом для якісного виявлення антигенів *Helicobacter pylori* у зразках фекалій, недорогий, зручний, але ні кількісний вміст, ні ступінь підвищення антигенів *Helicobacter pylori* не можливо визначити даним тестом.

- полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР): використовується для діагностики та класифікації штамів *Helicobacter pylori*, який включає визначення наявності *Helicobacter pylori* в крові і дозволяє визначити збудника навіть при його мінімальній кількості, але метод дорогий, можуть бути хибнопозитивні результати, потребує спеціального обладнання, яке на сьогоднішній день, мають не всі лабораторії та транспортування; (прототип) (7)

Задача, яку вирішує корисна модель, що заявляється, полягає у забезпеченні отримання більше достовірної інформації про структуру та функціонування слизової оболонки шлунка, ніж можна отримати при дослідженні на *Helicobacter pylori* чи від основних симптомів захворювання без проведення ендоскопічного дослідження верхніх відділів шлунково-кишкового тракту.

Технічний результат, що досягається при вирішенні задачі, полягає у можливості за допомогою аналізу крові, виявити тих пацієнтів у яких ри-

зик розвитку раку шлунка значно вищий з метою корекції лікування та профілактики можливих ускладнень.

Поставлену задачу досягають тим, що у відомому способі, який включає визначення наявності в крові інфекції *Helicobacter pylori*, згідно корисної моделі, додатково шляхом імуноферментного аналізу визначають рівень стимульованого гастрину-17 та пепсиногену I і при показниках рівня стимульованого гастрину-17 <5 пмоль/л діагностують атрофію антрального відділу шлунка середнього чи тяжкого ступеня, а при показниках рівня пепсиногену I <25 мкг/л - атрофію тіла шлунка середнього чи тяжкого ступеня.

Відмінною особливістю корисної моделі, що заявляється, є застосування тестової панелі для визначення рівня пепсиногену I, стимульованого гастрину-17 та антитіл до *Helicobacter pylori* шляхом імуноферментного аналізу (ІФА) Так як колонізація *Helicobacter pylori* викликає системну імунну відповідь, у сироватці інфікованих з'являються антитіла класів імуноглобулінів G та A. Серологічне визначення антихелікобактерних антитіл сироватки крові являється самим простим, найменш дорогим та найбільш доступним методом, який часто застосовується для первинного скринінгу (9).

У процесі роботи було встановлено, що при дослідженні зразків сироватки крові, у пацієнтів на хронічний гастрит при захворюваннях печінки та жовчовидільних шляхів, рівень стимульованого гастрину-17, достовірно менший, ніж у пацієнтів контрольних груп із виразковою хворобою дванадцятипалої кишки та хронічним гастритом, що свідчить про виявлення атрофії середнього та тяжкого ступеня слизової оболонки антрального відділу шлунка. Також є достовірна різниця між виявленням атрофії слизової оболонки тіла шлунка у пацієнтів на хронічний гастрит при захворюваннях печінки та жовчовидільних шляхів, у порівнянні з пацієнтами на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки. Достовірної різниці між ступенем атрофії слизової оболонки тіла та антрального відділу шлунка у пацієнтів із виразковою хворобою ДПК та хронічним гастритом не виявлено. Результати наведені у таблиці.

Таблиця

Рівні гастрину-17 та пепсиногену I у пацієнтів досліджуваних груп, ( $P \pm m_p$ , %)

Гастрин-17	Захворювання печінки та жовчовидільних шляхів	Виразкова хвороба дванадцятипалої кишки	Хронічний гастрит	P
<5 пмоль/л (атрофія антрального відділу шлунка середнього чи тяжкого ступеня)	25,9±4,9	11,1±3,5	11,1±3,5	$P_{I-III} < 0,05$ $P_{I-II} < 0,05$
>10 пмоль/л - гіпергастринемія	-	-	-	-
Норма 5-10 пмоль/л (атрофії не має)	21,0±4,5	19,8±4,4	11,1±3,5	
Пепсиноген I				
>25 мкг/л (не має атрофії тіла шлунка)	35,8±5,3	28,4±5,0	18,5±4,3	
<25 мкг/л (атрофія тіла шлунка середнього чи тяжкого ступеня)	11,1±3,5	2,5±1,7	3,7±2,1	$P_{I-III} > 0,05$ $P_{I-II} < 0,05$ $P_{II-III} > 0,05$

Таким чином, враховуючи результати проведеного дослідження, можна об'єктивно оцінити стан слизової оболонки шлунка та при виявленні пацієнтів із безсимптомно перебігаючим атрофічним гастритом на тлі захворювань печінки та жовчовидільних шляхів, запропонувати своєчасне, цілеспрямоване та безпечне лікування, що буде сприяти зниженню кількості виникнення ускладнень захворювань та їх профілактики.

Спосіб здійснюється наступним чином:

Зразки крові для визначення рівня пепсиногену I (5 мл венозної крові) беруть натще. Для визначення рівня концентрації гастрину-17, зразки крові (5 мл венозної крові) беруть після білкового навантаження (сире яйце або 100 гр. сиру). Стимуляцію проводять в ранкові часи натще або через 10 годин голодування. Кров для аналізу беруть через 20 хвилин після прийому білку. Зразки крові поміщають у чисті скляні пробірки та щоб отримати коагуляцію, поміщають у холодильник. Сироватку виділяють при центрифугуванні приблизно 45-60 хвилин. Якщо зразки крові одразу не використовуються, то їх заморожують (-20 °C). Для тривалого зберігання рекомендовані ультра низькі температури (-75-80 °C). Слід уникати повторних циклів заморожування -розморожування.

Принцип проведення дослідження. Визначення гастрину-17 та пепсиногену - ELISA засноване на методі ІФА крові, коли специфічні первинні гастрин-17 та пепсиноген I антитіла, адсорбовані на лунках мікропланшету та специфічні вторинні гастрин-17 та пепсиноген I антитіла поєднуються з гастрином-17 та пепсиногеном I у сироватці крові. Далі біотинильований IgG поєднується з вторинними антитілами. Авідин, помічений пероксидазою хрину, забезпечує контроль та посилення реакції. Процедура дослідження представляє собою послідовність реакцій:

1. Моноклональні антитіла, специфічні до гастрину-17 та пепсиногену I людини на поверхні полістиролу, поєднуються з гастрин-17 та пепсиноген I молекулами, що представлені в сироватці крові людини;
2. Лунки мікропланшету промивають для видалення залишків зразків сироватки та неспецифічних протеїнів після інкубації;
3. Специфічні вторинні антитіла поєднуються з молекулами гастрину-17 та пепсиногену I, які фіксовані первинними антитілами;
4. Лунки мікропланшету промивають для видалення залишків реагенту після інкубації;
5. Біотинильований IgG поєднується з вторинними антитілами;
6. Не поєднаний IgG видаляється під час наступного промивання;
7. Авідин-пероксидаза поєднується з біотинильованим IgG;
8. Після промивання в лунки додають субстрат (ТМВ). Субстрат окислюється ферментом до отримання кінцевого кольорового продукту;
9. Ферментативна реакція припиняється після додавання зупиняючого розчину. Інтенсивність зафарбовування прямо пропорційна концентрації

гастрину-17 та пепсиногену I в досліджуваному зразку крові.

Приклади конкретного використання способу:

Спосіб був апробований на кафедрі внутрішньої медицини № 3 у клініці лікарні водників м. Києва, де був обстежений 81 пацієнт. Критеріями включення були: відсутність HBV, HCV, HDV-інфекцій, які виявлялись за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) та полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР); відсутність аутоімунного гепатиту; відсутність вживання алкоголю в гепатотоксичних дозах (20 г/добу для жінок та 40 г/добу для чоловіків). Пацієнти були статистично однорідні за віком, статтю, тривалістю хвороби та спектром супутніх захворювань, із показників «Гастропанелі» визначалися рівні стимульованого гастрину-17 (після білкового навантаження сирим яйцем) та пепсиногену I, тобто досліджувався стан слизової оболонки тіла та антрального відділу шлунка. Спосіб, що пропонується, зарекомендував себе як простий, неінвазивний серологічний тест, який безпечний та зручний для пацієнта, швидкий у отриманні результатів та такий, що забезпечує скринінг ризику пацієнтів і принцип профілактичної медицини, покращує рівень медичної допомоги та якість життя, дозволяє виявити пацієнтів, які потребують подальшого дообстеження (в т.ч. ендоскопії), спостереження та лікування.

Джерела інформації:

1. Аруин Л.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Э.П. Хронический гастрит. -Амстердам, 1993.-с. 151-161.
2. Геллер Л.И., Мамонтова М.И. Симптоматические гастродуоденальные язвы. - Хабаровск: Б.и., 1978.
3. Губергриц Н.Б., Лукашевич Г.М., Загоренко И.А. Гепатогенные гастропатии и гепатогенные язвы : старая история, которая остается вечно молодой, «Мистецтво лікування» № 3 (19), 2005 р.
4. Дегтярева И.И. Клиническая гастроэнтерология. Руководство для врачей., МИА, М. - 2004. - с. 50, с. 118-119.
5. Ивашкин В.Т., Мерпо Ф., Лапина Т.Л., «Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии»././ Москва, 1999.
6. Комаров Ф.И., Галкин В.А. и др., Сочетанные заболевания органов дуодено-холеодопанкреатической зоны. - М.: Медицина, 1983.
7. Степанов Ю.М., Харченко Н.В. Язва желудка и двенадцатиперстной кишки. Диагностические и лечебные стандарты, 2009 г.
8. Kokkola A., Sipponen P., Rautelin H., Harkonen M. Et al. The effect of Helicobacter pylori eradication on the natural course of atrophic gastritis with dysplasia. Aliment. Pharmacol. Ther. 2002, Mar.; 16(3): 515-20.
9. Misiewicz J.J., Tytgat G.N.J., Goodwin C.S. et al. The Sydney system: a new classification of gastritis. // 9th Congress of Gastroenterology. Working party reports. Blackwell; Melbourne, 1990.-p. 1-10.
10. Tytgat G.N.J. Endoscopic transmission of Helicobacter pylori. // Aliment. Pharmacol. Ther.-1995.-Vol. 9 (Suppl.2). -p.105-110.

11. Zerib F., Lenk C, Sawan B., Cayla R. et al.  
Longterm effects of Helicobacter pylori eradication on

gastric antral mucosa in duodenal ulcer patients. Eur.  
Gastroenterol. Hepatol. 2000 Jul., 12(7): 719-25.