

Медицински Университет – Плевен

Факултет „Медицина“

Катедра „Нефрология, Хематология и Гастроентерология“

Д-р Зорница Веселинова Горчева

**Роля на Пепсиноген I, Пепсиноген II и Хеликобактер пилори
Антитяло от клас IgG, като неинвазивни биомаркери за оценка
тежестта на хроничен атрофичен гастрит и риска от стомашен
карцином**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на Дисертационен труд

за присъждане на образователна и научна степен

„ДОКТОР“

професионално направление 7.1. „Медицина“

научна специалност Гастроентерология

Научни ръководители: Проф. Д-р Крум Кацаров, д.м.н.

Доц. Д-р Иван Лалев, д.м.

Официални рецензенти: Доц. Д-р Иванка Маринова, д.м.

Доц. Д-р Петко Карагъзов, д.м.

Плевен 2022г.

Дисертационният труд е написан на 151 стандартни машинописни страници онагледен с 43 фигури, 15 таблици и две приложения. Използвани са 192 литературни източника, от които на кирилица 1 и на латиница 191.

Във връзка с дисертационния труд са реализирани 3 публикации.

Докторантът работи като лекар-асистент по гастроентерология в Клиника по вътрешни болести на УМБАЛ „Света Марина-Плевен“.

Дисертационният труд е обсъден, приет и насочен за защита на заседание на Катедрен съвет на Катедра „Нефрология, Хематология и Гастроентерология“ при Медицински Университет-Плевен.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 27.10.2022 г. от 13:00 часа в зала „Амброаз Паре“ на МУ-Плевен.

Научно жури в състав:

Председател:

Доц. Д-р Иванка Маринова, д.м.

Членове:

Проф. Д-р Крум Кацаров, д.м.н.

Проф. Д-р Аделаида Русева, д.м.н.

Доц. Д-р Петко Карагьозов, д.м.

Доц. Д-р Владимир Андонов, д.м.н

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на МУ-Плевен.

СЪДЪРЖАНИЕ

I. ВЪВЕДЕНИЕ	5
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	8
III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ	8
1. Материал	8
2. Методи	11
2.1 Документален и социологически метод	11
2.2 Клиничен метод	11
2.3 Лабораторни методи	11
2.4 Имунологичен метод (ELISA)	11
2.5 Диагностичен метод (Езофагогастроскопия)	12
2.6 Хистологичен и хистохимичен метод	13
2.7 Статистически методи	17
IV. РЕЗУЛТАТИ	20
V. ОБСЪЖДАНЕ	43
VI. ИЗВОДИ	52
VII. ПРИНОСИ	54
1. Приноси с научно-теоритичен характер	54
2. Приноси с научно-приложен характер	54

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ХАГ хроничен атрофичен гастрит

ИМ интестинална метаплазия

СК стомашен аденокарцином

МАГ мултифокален атрофичен гастрит

ИМ интестинална метаплазия

ЕГС езофагогастроскопия

ГГИТ Горен гастроинтестинален тракт

PGs серумни пепсиногени

PGI пепсиноген I

PGII пепсиноген II

sPGr съотношение пепсиноген I/ пепсиноген II

Hp *Helicobacter pylori*

HpAb Хеликобактер пилори антитяло IgG

OLGA Operative Link for Gastric Assessment

OLGIM Operative Link on Gastric Intestinal Metaplasia

MAPS Management of precancerous lesions and conditions of the stomach

ESGE European Society of Gastrointestinal Endoscopy

CE Chromendoscopy

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Хроничният атрофичен гастрит (ХАГ) и интестиналната метаплазия (ИМ) се считат за предракови състояния, тъй като представляват фона, на който може да се развие дисплазия и аденокарцином на стомаха. Според модела на Correa от 1975г, хроничното възпаление на стомашната мукоза отключва поредица от промени, които преминават през неатрофичен хроничен гастрит, мултифокален атрофичен гастрит (МАГ), интестинална метаплазия, дисплазия и интраепителна неоплазия. Разделянето на гастрита на неатрофичен и атрофичен е от значение за определяне на риска от развитие на стомашен карцином. Освен това пациентите с тежка атрофия и екстензивна метаплазия са с повишен риск от стомашен карцином (СК). Различни системи за класификация са използвани в годините, като и до днес атрофичният гастрит остава трудна хистопатологична диагноза. Клиничната изява на хроничния атрофичен гастрит не е специфична. Езофагогастроскопията с биопсия е „златен стандарт“ за скрининга и диагностиката на стомашния карцином. Изследването обаче е инвазивно, скъпо и неприятно за пациентите. Ето защо не може да бъде широко приложено като скрининг за преканцерозни лезии. Необходими са неинвазивни методи за оценка на лицата с повишен риск. В последните години различни автори предлагат теста за пепсиногени като маркер за идентификация на пациенти с висок риск от развитие на стомашен карцином. Различни проучвания цитират значимостта на пепсиногените (PGs) като неинвазивни маркери за оценка на атрофичните промени в стомаха, но данните за корелацията им с хистологичната находка са разнопосочни. Освен това инфекцията с *Helicobacter pylori* (Hр), пола и възрастта могат да окажат влияние върху интерпретирането на резултатите от серумните биомаркери. Необходимо е локално валидиране на метода преди въвеждането му в ежедневната практика на гастроентеролога.

При прегледа на специализиранта литература по темата за Пепсиногените

и Хеликобактер пилори антитялото от клас IgG, като неинвазивни маркери за оценка тежестта на атрофията и риска от стомашен карцином, установихме следните нерешени проблеми и дискутабилни моменти:

1. Пациентите с хроничен атрофичен гастрит и интестинална метаплазия са с повишен риск от интестинален тип карцином според класификацията на Lauren. Атрофичният гастрит остава трудна хистопатологична диагноза, с различна степен на съгласие между отделните школи. Използването на различни скорови системи затруднява интерпретацията на резултатите. Интестиналната метаплазия е с по-добър профил на съгласие между патолозите. Пациенти с непълен тип ИМ може да са с повишен риск от СК и да имат нужда от допълнително стратифициране.

Уместно е въвеждането на общовалидирани скали и методи за оценка в ежедневната практика, което би довело до по-ранно откриване и правилно поведение при пациенти с преканцерозни лезии на стомаха.

2. В последните години активно се търсят биомаркери за неинвазивна оценка на ХАГ и ИМ. Използването на пепсиногени и хеликобактер пилори IgG антитяло се препоръчва от Европейското дружество по гастроинтестинална ендоскопия, но редица проучвания показват противоречиви данни за ефективността на тези маркери в зависимост от географския регион и етническите особености. Локалното валидиране на маркерите се препоръчва преди употребата им в ежедневната практика .

Използването на различни критерии за хистологична оценка затруднява интерпретацията на резултатите относно корелацията между биомаркерите и хистологичната находка.

3. Комбинирано изследване на серумните стойности на пепсиногени (PGs) и Хеликобактер пилори антитяло от клас IgG (HPAb) и влиянието на различни фактори върху стойностите им не е правено досега в България. Не е

напълно изяснено дали има разлика в стойностите на пепсиногените при двата пола и с напредване на възрастта. Освен това, според някои автори, праговите стойности на пепсиногените се влияят от Нр статуса и това трябва да се има предвид при използването на маркерите.

4. Въпреки многобройните проучвания за взаимовръзката между някои рискови фактори и стомашен карцином, подобни данни за развитието на ХАГ и ИМ и взаимодействието им с някои фактори на средата, са оскъдни. Връзката между хранителните навици, тютюнопушенето и рака на стомаха предполага и наличие на корелация между тях и преканцерозните лезии каквито са ХАГ и ИМ.

5. Подобряването на комуникацията между гастроентеролози и патолози, използването на синоптични фишове и унифицирани скали за оценка би допринесло за правилното менажиране на пациентите с ХАГ и ИМ.

6. Използването на единен регистър на пациентите с преканцерозни лезии, би довело до по-добро проследяване и клинично поведение при тези болни, които са в риск да развият стомашен аденокарцином.

7. Необходимо е изработването на алгоритъм за диагностика и проследяване на пациентите с преканцерозни лезии на стомаха, който да включва унифицирани скорови системи за оценка като и общоприети клинични протоколи.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

1. Цел: Да се проучи диагностичното значение на пепсиноген I, пепсиноген II и Хеликобактер пилори антитяло от клас IgG, като неинвазивни биомаркери за оценка тежестта на хроничен атрофичен гастрит и риска от развитие на стомашен карцином и корелацията им с морфологичната находка.

2. Задачи:

1. Да изследваме серумните нива на неинвазивните биомаркери при пациенти с хистологично потвърдена атрофия, при асимптомна група и при група с аденокарциноми на стомаха.

2. Да съпоставим серологичните стойности на биомаркерите и хистологичната находка в група „Атрофия“.

3. Да проучим корелацията между стойностите на Пепсиноген I, Пепсиноген II, Хеликобактер пилори антитяло IgG и OLGA/OLGIM стадия на пациентите от групата с атрофични промени.

4. Да проучим зависимостта между биомаркерите и някои особености на изследваните лица, като пол, възраст и инфекция с Хеликобактер пилори.

5. Да анализираме клиничните характеристики и ролята на стила на живот на пациентите с хроничен атрофичен гастрит и интестинална метаплазия.

6. Да изработим примерен алгоритъм за диагностика, проследяване и клинично поведение, при пациенти с ХАГ.

III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. Материал

1.1. Клиничен контингент: основни характеристики

Проведено е проспективно клинико-епидемиологично проучване. Изследваният клиничен контингент включва 90 пациенти, лекувани в Клиника

по вътрешни болести на УМБАЛ „Света Марина“ гр. Плевен и Клиника по гастроентерология ВМА София от месец август 2020 г. до месец март 2022 г.

Пациентите са разделени в три групи:

I група – „Асимптомни“ : 30 пациенти, без клинични и симптоматични оплаквания от ГИТ.

II група – „Атрофия“: 30 пациенти, при които е извършена езофагогастроскопия (ЕГС) с биопсия и хистологично е потвърдена атрофия и/или интестинална метаплазия.

III група – „Карциноми“ : 30 пациенти, при които е извършена ЕГС с биопсия и хистологично потвърдена диагноза.

С цел изключване на замъгляващите фактори, от група „Асимптомни“, отпаднаха 7 лица.

Критерии за подбор на контролна група (I):

- възраст над 18 години;
- липса на симптоми от страна на горния гастроинтестинален тракт.

Критерии за включване във II група:

- възраст над 18 години;
- хистологично потвърдена атрофия на стомашната мукоза, според биопсичен протокол от Сидни.

Критерии за включване във III група:

- възраст над 18 години
- хистологично верифициран аденокарцином, според утвърден биопсичен протокол

Критерии за изключване от I и II група:

- възраст под 18 години
- данни за диагностициран стомашен карцином или язвена болест
- употреба на инхибитори на протонната помпа, H2 рецепторни антагонисти или НСПВ до 12 седмици преди изследването

- декомпенсирано чернодробно или бъбречно заболяване

Критерии за изключване от III група:

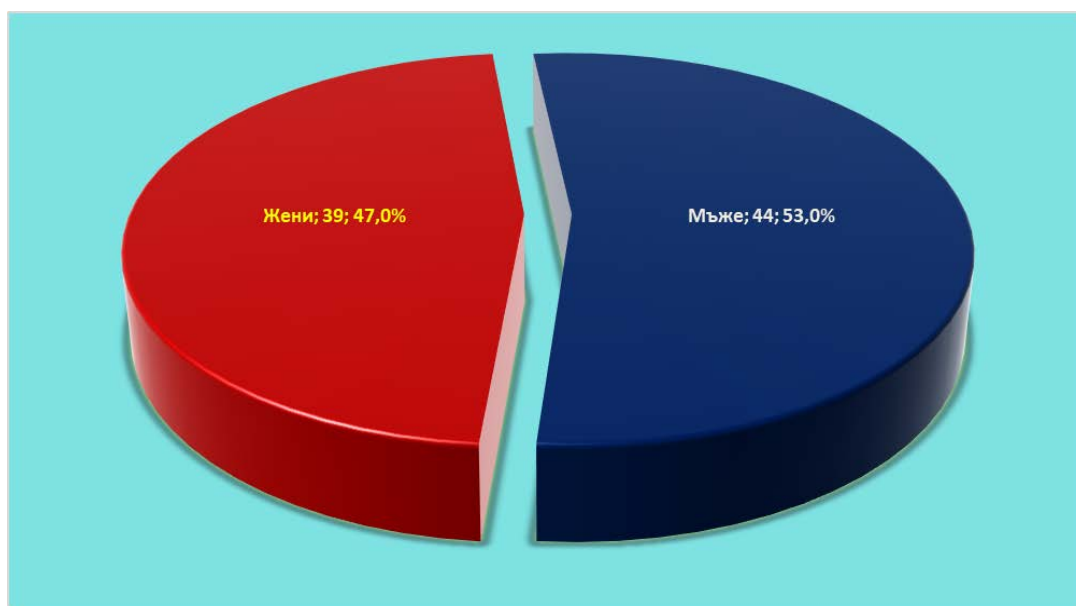
- възраст под 18 години
- декомпенсирано чернодробно или бъбречно заболяване

От обхванатите общо 83 пациенти, 44 (53%) са мъже и 39 (47%) са жени. (Фиг. 1). Средната възраст на изследвания контингент е $63,52 \pm 9,90$ години в интервала между 31 и 83.

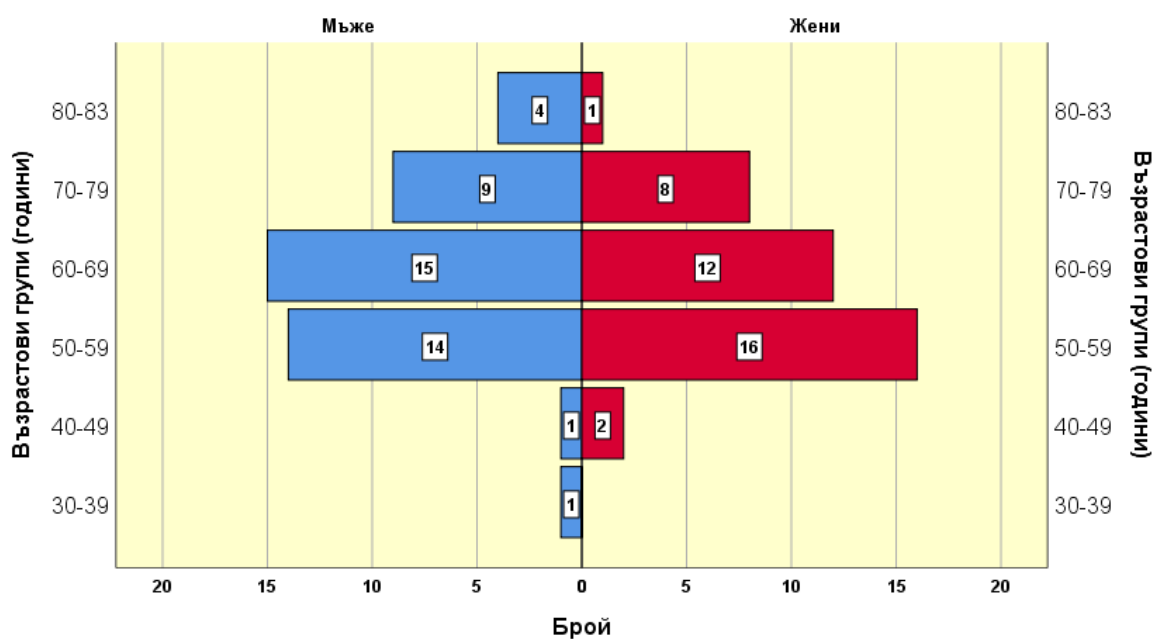
Разпределението по пол и възраст едновременно е представено на фиг.2. От нея се вижда, че:

- Най-голям брой пациенти (15) при мъжете са от възрастова група 60-69 години, следвани от 50-59 години (14). Най-малко (по 1) са във възрастовата група – 30-39 и 40-49 години;

- При жените с най-голяма численост (16) са от възрастова група 50-59 години, следвани от тези между 60-69 г. (12). Във възрастовата група 30-39 участници в проучването липсват.



Фигура 1. Честотно разпределение на изследвания контингент по полова принадлежност



Фигура 2. Разпределение на изследвания контингент по пол и възрастови групи

2. Методи

2.1. Документален и социологически метод

2.2. Клиничен метод

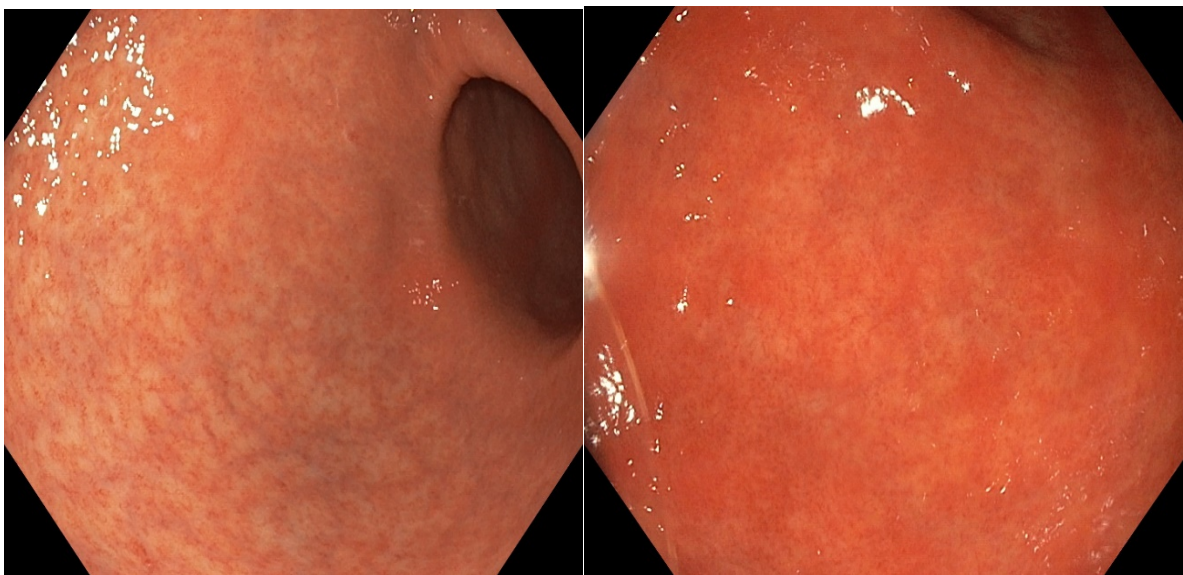
2.3. Лабораторни методи

2.4. Имунологичен метод (ELISA)

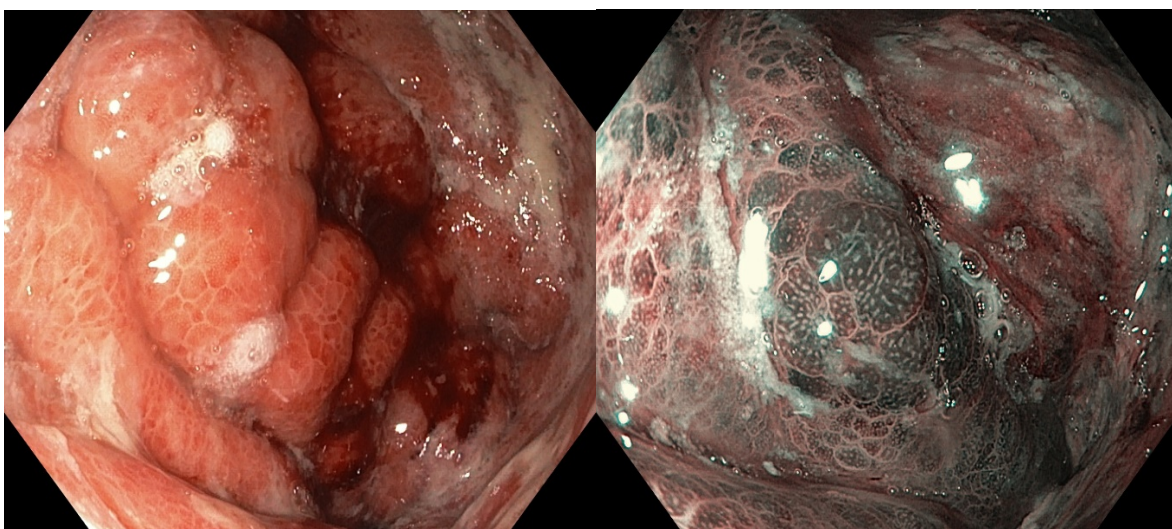
Количествено определяне на серумните нива на биомаркерите при всички пациенти, включени в проучването се извърши в лабораторията на сектор „Биология“ към Медицински Университет Плевен. Беше използван „сандвич“ ELISA – метод, с Human Pepsinogen I ELISA Kit, с Human Pepsinogen II ELISA Kit, фирма Biovendor и Anti – Helicobacter pylori ELISA (IgG) фирма EUROIMMUN.

2.5. Диагностичен метод (Езофагогастроскопия)

В нашето проучване езофагогастроскопия беше извършена при пациентите от група „Атрофия“ и от група „Карциноми“. Изследването беше направено в условия на обща анестезия, с конвенционален гастроскоп OLYMPUS с предна оптика GIF – EZ1500 и видеосистема OLYMPUS EVIS X1 CV- 1500.



Фигура 3. Ендоскопски образ на хроничен атрофичен гастрит

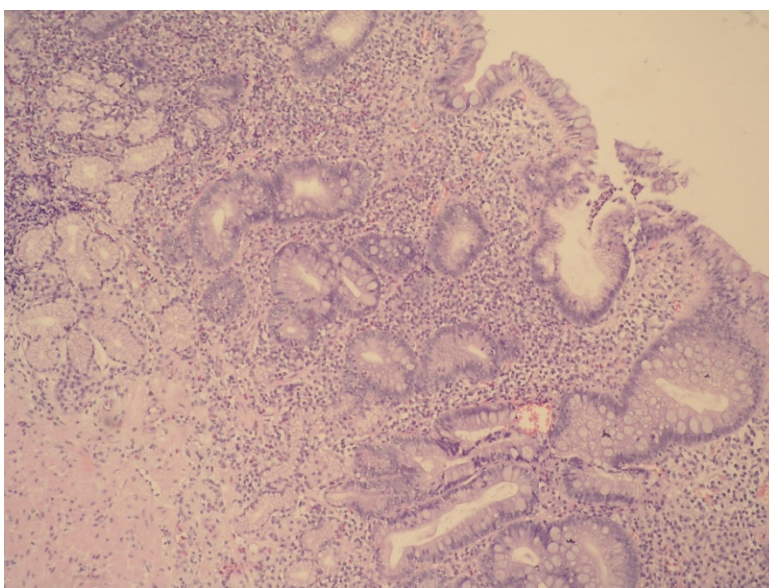


Фигура 4 Ендоскопски образ на стомашен карцином – White light Endoscopy vs. Narrow Band Imaging

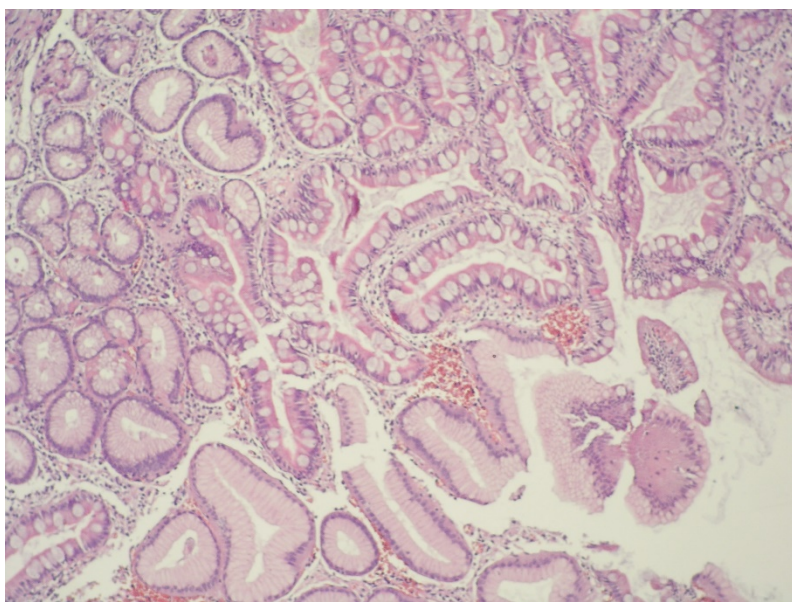
2.6. Хистологичен и хистохимичен метод

За оценка на атрофията, интестиналната метаплазия и *Helicobacter pylori*, беше използвано стандартно оцветяване с Хематоксилин Еозин и Ван Гизон.

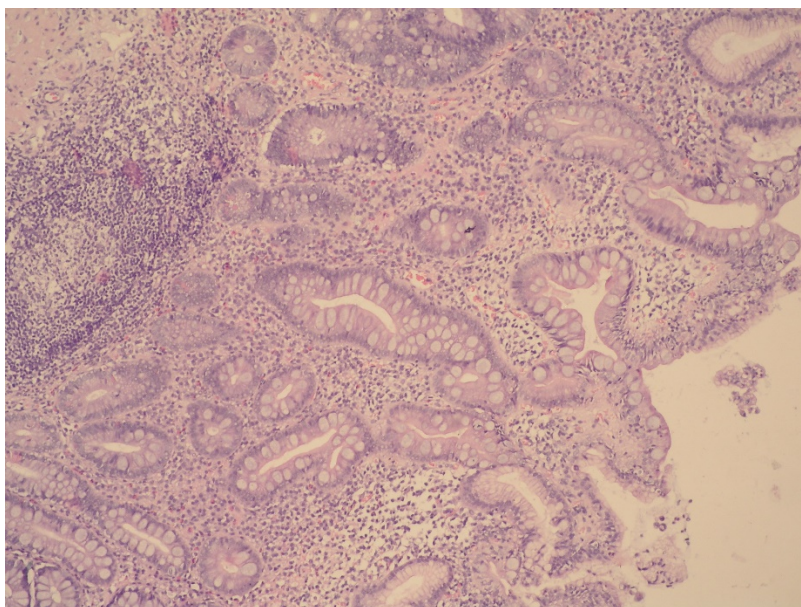
За оценка на хистологичния материал от група „Карциноми“ беше приложено рутинно оцветяване с Хематоксилин Еозин.



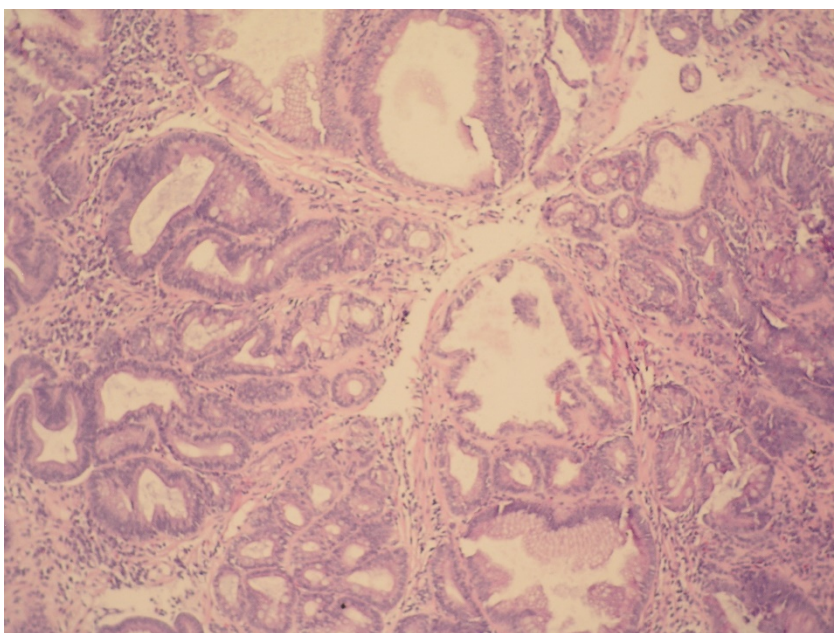
Фигура 5. Хроничен атрофичен гастрит (антрална лигавица). Наблюдава се атрофирала мукоза с дифузен възпалителен инфилтрат, заемащ цялата дебелина на мукозата, жлезите намаляват по брой, раздалечават се една от друга и загубват нормалната си архитектура, дифузна интестинална метаплазия в повърхностния епител и в дълбочина на ямките, m.tucose с хипертрофия-оцветяване Н&Е, увел. X 10



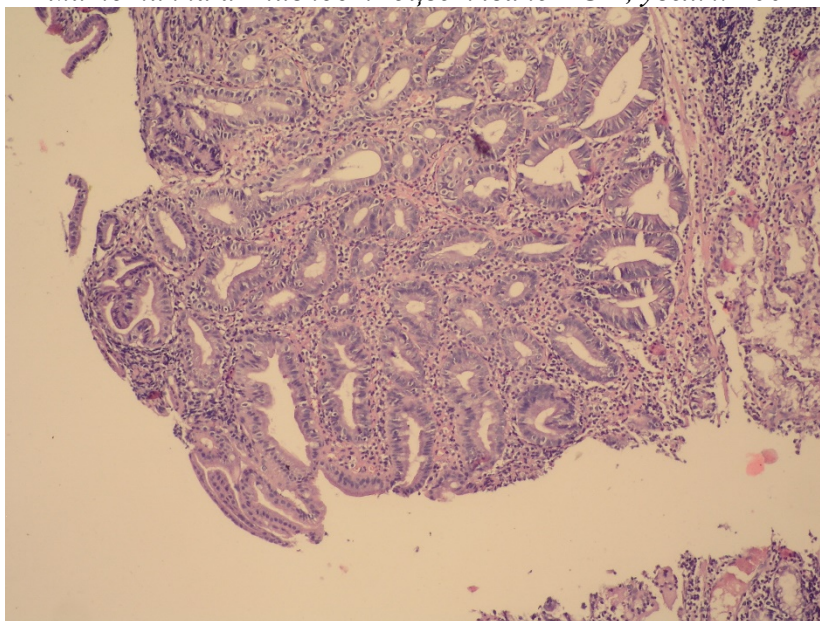
Фигура 6. ХАГ с интестинална метаплазия пълнен субтип /тип-1/. Стомашната мукоза наподобява тънкочревен епител с оформяне на правилни крипти, повърхностен и жлезист епител, заместен с овални еднакви по размери чашковидни клетки и ентероцити, добре очертана „четковидна граница“ трансформиране подобно на тънкочревна мукоза с въси и крипти - оцветяване Н&Е, увел. x 100



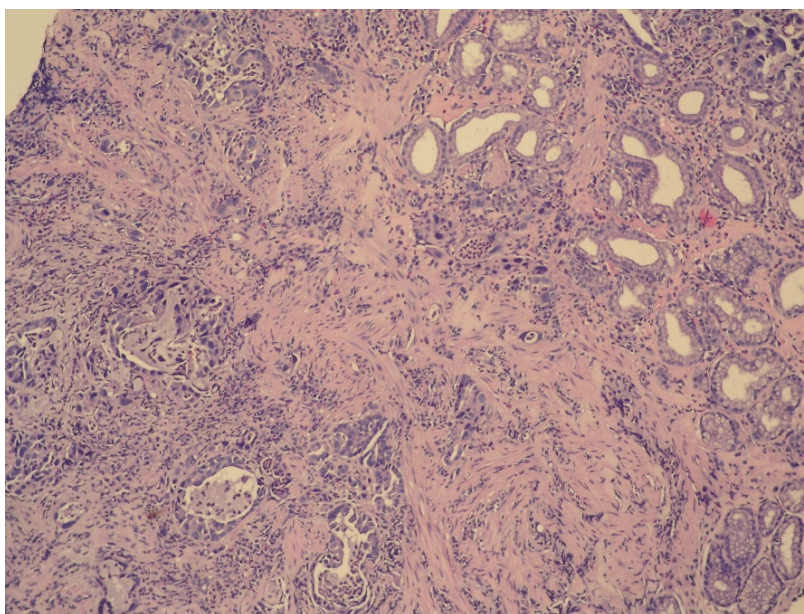
Фигура 7. ХАГ с интестинална метаплазия непълнен субтип /тип-2/ - Стомашната мукоза е с нарушена архитектура, наблюдават се деформирани и разклонени крипти, чашковидните клетки са с вариабилни размери, единични муцин- секретиращите цилиндрични клетки, оскъден или липсващ абсорбативен епител поради което липсва „четковидна граница“ - оцветяване Н&Е, увел. x100



Фигура 8. Хроничен атрофичен гастрит с лека степен на интраепителна неоплазия (дисплазия) - интестинален тип. Наблюдават се минимално отклонение в архитектурата, лека до умерена цитологична атипия, псевдостратификация на клетките, елонгирани и хиперхромни базално разположени ядра, слаба до умерена митотична активност- оцветяване Н&Е, увел. x 100

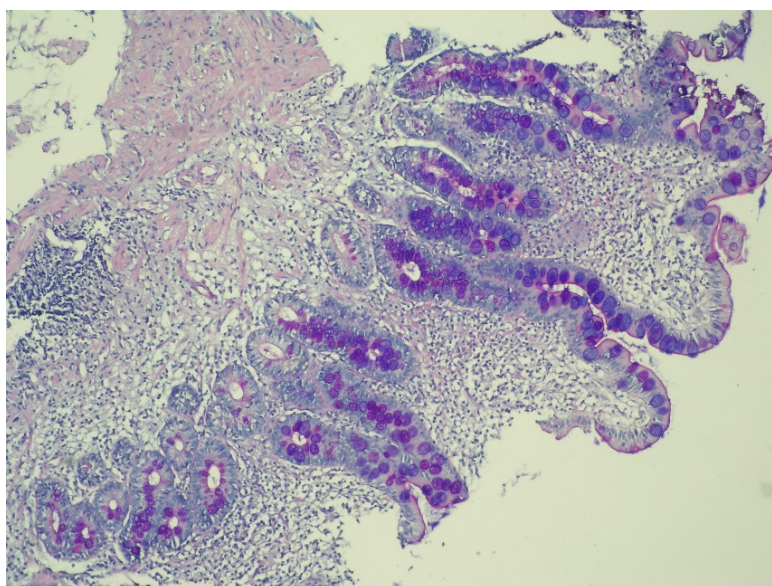


Фигура 9. Хроничен атрофичен гастрит с тежка степен на интраепителна неоплазия (дисплазия)-интестинален тип. Наблюдават се нарушена архитектурата на жлезите. Последните са плътно разположени една до друга при запазени базални мембрани, неопластичните клетки са кубични, рядко цилиндрични, ядрата са локализирани на различни нива с тенденция на разположение към лумена на жлезите, умерен полиморфизъм, хиперхромазия, проминиращи нуклеоли и атипични митози, стромата е с изразен възпалителен инфилтрат от лимфоцити и макрофаги-оцветяване Н&Е, увел. x 100

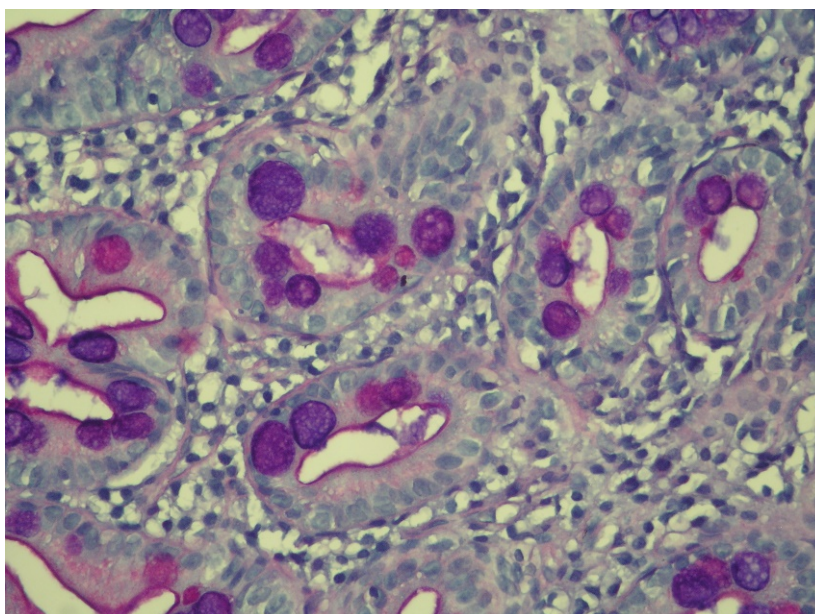


Фигура 10. Инвазивен аденокарцином - интестинален субтип по Lauren. Инфилтрация от атипични жлезни структури и единични неопластични клетки сред мускулната тъкан-оцветяване H&E, увел. x 100

- За определяне вида на секретиралите муцини и субтипизиране на интестиналната метаплазия беше извършено хистохимично оцветяване с Periodic Acid-Schiff (pH 2.5) /Alcian Blue.



Фигура 11. ХАГ с интестинална метаплазия пълнен субтип /тип-1/. Наблюдават се предимно кисели муцини в чашковидните клетки (син цвят) сиаломуцини. Слизна секреция липсва в повърхностния цилиндричен епител и се очертава добре оформена „четковидна граница“ - оцветяване PAS& AB, увел. x 400



Фигура 12 ХАГ с интестинална метаплазия непълен субтип /тип- 2/ наличие на кисели муцини в чашковидните клетки (син цвят) и кисели и/или неутрални муцини в цилиндричния епител (розов цвят)- оцветяване PAS& AB, увел. x 400

2.7. Стадиране според OLGA/OLGIM

За стадирането по OLGA атрофията е дефинирана като „липса на съответни“ за дадена част на стомаха жлези. Всяка от биопсичните проби (независимо от коя част на стомаха) е оценена според четири-степенна скала според атрофичните промени, като: липса на атрофия, 0%, score=0, лека атрофия, 1-30%, score=1, умерена атрофия, 31-60%, score=2, тежка атрофия, >60% score=3. Хистологичната оценка на incisura angularis е отнесена към оценката на antrum. След стадирането на хистологичните промени според степентта на атрофия в corpus и antrum, като резултат се получава OLGA стадии, който прогресира според степентта на риска от карцином на стомаха. Най-ниският стадии е 0, а най-високият е IV, който съответно крие най-голям риск за пациента.

Atrophy Score		Corpus			
		No Atrophy (score 0)	Mild Atrophy (score 1)	Moderate Atrophy (score 2)	Severe Atrophy (score 3)
A n t r u m	No Atrophy (score 0) (including <i>incisura angularis</i>)	STAGE 0	STAGE I	STAGE II	STAGE II
	Mild Atrophy (score 1) (including <i>incisura angularis</i>)	STAGE I	STAGE I	STAGE II	STAGE III
	Moderate Atrophy (score 2) (including <i>incisura angularis</i>)	STAGE II	STAGE II	STAGE III	STAGE IV
	Severe Atrophy (score 3) (including <i>incisura angularis</i>)	STAGE III	STAGE III	STAGE IV	STAGE IV

Фигура 13. OLGA staging for gastritis: A tutorial. Rugge M, Correa P, Di Mario F, El-Omar E, Fiocca R, Geboes K, et al. Dig Liver Dis. 2008;40(8):650–8.

При стадирането според OLGIM е използвана същата скала за оценка на промените в corpus и antrum, но вместо атрофия се оценява интестиналната метаплазия.

		Corpus			
		Not fat: no IM (score 0)	Mild IM (score 1)	Moderate IM (score 2)	Severe IM (score 3)
Antrum (including <i>incisura angularis</i>)	No IM (score 0)	Stage 0	Stage I	Stage II	Stage II
	Mild IM (score 1)	Stage I	Stage I	Stage II	Stage III
	Moderate IM (score 2)	Stage II	Stage II	Stage III	Stage IV
	Severe IM (score 3)	Stage III	Stage III	Stage IV	Stage IV

IM, Intestinal metaplasia; OLGIM, operative link on gastric intestinal metaplasia assessment.

Фигура 14. OLGIM - the staging of gastritis with the OLGA system by using intestinal metaplasia as an accurate alternative for atrophic gastritis. Capelle LG, de Vries AC, Haringsma J, Ter Borg F, de Vries RA, Bruno MJ, et al.

2.8. Статистически методи

Данните са въведени и обработени със статистическите пакети IBM SPSS Statistics 25.0. и MedCalc Version 19.6.3. Фигурите са оформени с програмата Excel на Microsoft Office 2021. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе прието $p < 0.05$.

Бяха приложени следните статистически методи:

1. **Дескриптивен анализ** – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване.

2. **Графичен анализ** – за визуализация на получените резултати.

3. **χ^2 тест и Fisher's exact test** - за проверка на хипотези за наличие на зависимост между категорийни променливи.

4. **Fisher-Freeman-Halton exact test** - за проверка на хипотези за наличие на зависимост между категорийни променливи при невъзможност за прилагане на теста χ^2 .

5. **Непараметрични тестове на Колмогоров-Смирнов и Шапиро-Уилк (Shapiro-Wilk)** – за проверка на разпределението за нормалност.

6. **Еднофакторен дисперсионен анализ ANOVA** – за проверка на хипотези за влияние на фактори с повече от две нива.

7. **Коефициенти на Bonferroni и Games-Howell** – за Post Hoc множествени сравнения.

8. **T-критерий на Стюдънт** – за сравняване средните аритметични на две независими извадки.

9. **Непараметричен тест на Крускал-Уолис** – за проверка на хипотези за различие между няколко независими извадки.

10. **Непараметричен тест на Ман-Уитни** – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.

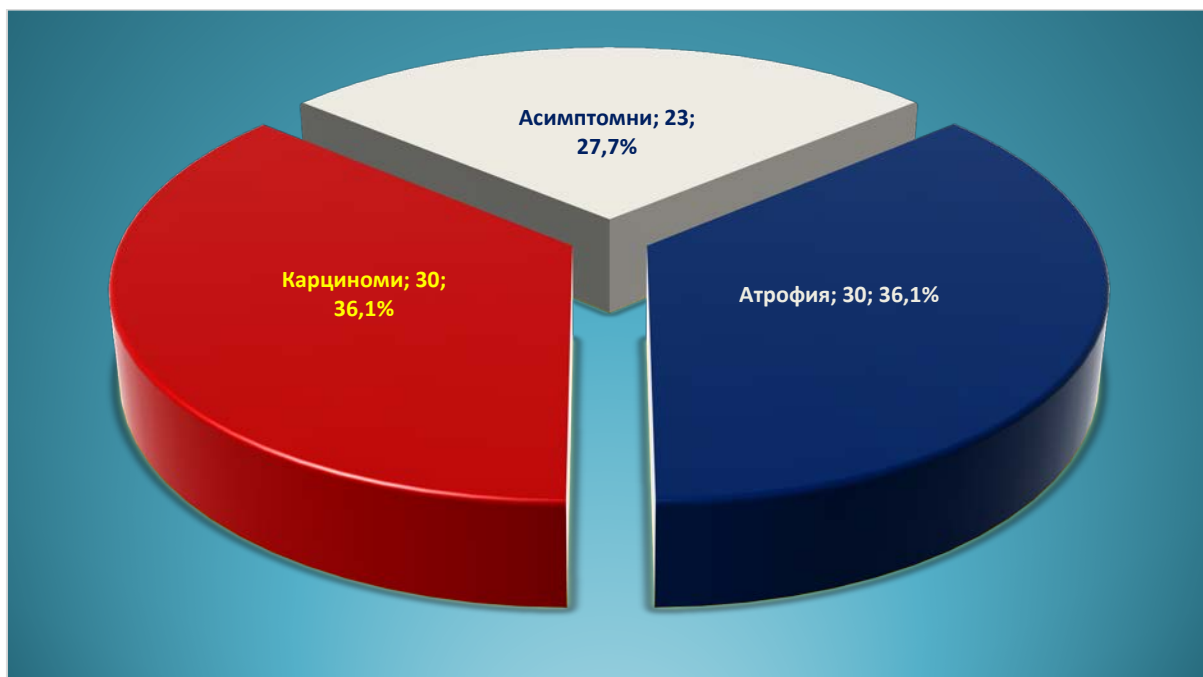
11. **Корелационен анализ (Spearman's rho)** – за проверка на хипотези за наличие на линейна зависимост между две количествени променливи.

IV. РЕЗУЛТАТИ

1. Базисни характеристики на трите групи

За целите на проучването изследвания контингент бе разделен на три групи:

- *I група – 23 (27,7%) асимптомни;*
- *II група – 30 (36,1%) пациенти с хистологично потвърдена атрофия /метаплазия;*
- *III група – 30 (36,1%) пациенти с хистологично потвърден аденокарцином на стомаха;*



Фигура 15: Честотно разпределение на изследвания контингент по групи на изследване

Проведеният сравнителен анализ (табл. 1) установи, че трите групи на изследване са статистически изравнени по известните замъгляващи фактори пол и възраст, което е добра предпоставка за коректност на последващите сравнения.

2. Анализ между трите групи

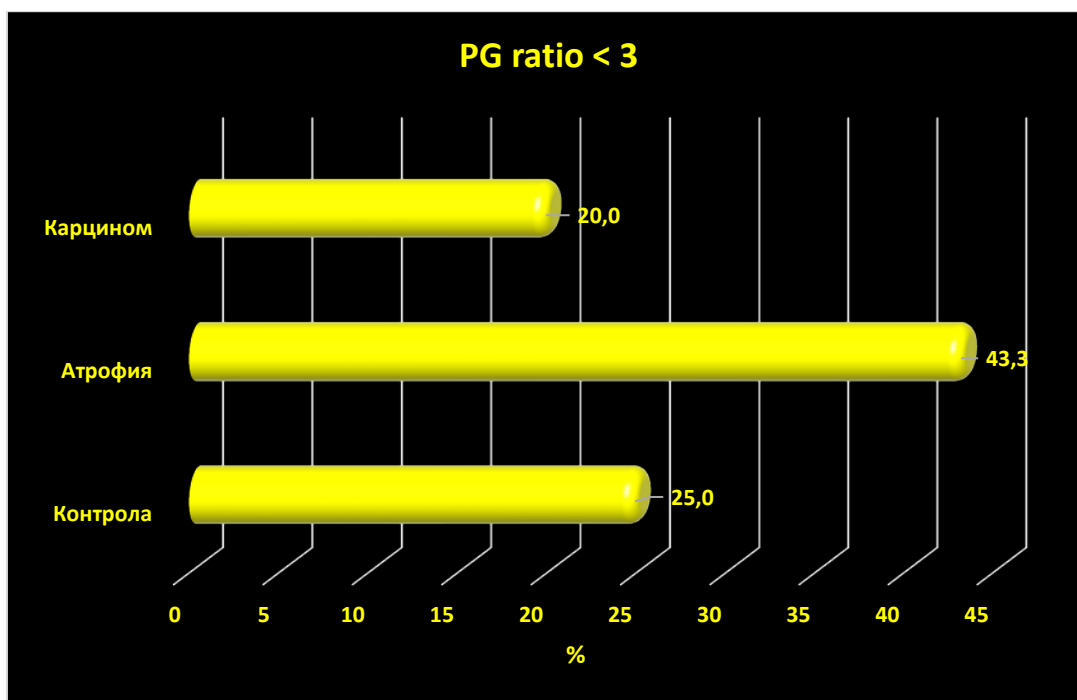
По отношение стойностите на PgI сред трите групи – „Асимтомни“, „Атрофия“ и „Карциноми“ (съответно – 100.44ng/ml, 90.17ng/ml 109.77ng/ml.) установихме най - ниско ниво на маркера при група Атрофия“, без този резултат да има статистическа значимост (фиг.16)



Фигура 16: Средни стойности на Пепсиноген I при трите групи на изследване



Фигура 17: Средни стойности на Пепсиноген II при трите групи на изследване



Фигура 18: PG ratio<3 при трите групи на изследване

Сигнификантна разлика между трите групи се установява единствено при пепсиноген II (фиг. 17). Пациентите с карцином имат статистически достоверно по-ниски средни стойности на този показател спрямо тези на останалите две групи, които не се различават статистически помежду си.

От трите изследваните групи, с най-голям относителен дял на съотношение P_gI/P_gII <3 е тази с „Атрофия“, без данните да имат статистическа разлика в сравнение с останалите (фиг.18).

Таблица 1. Сравнителен анализ на изследваните групи по пол и възраст

Показател \ Групи	Асимптомни (n=23)		Атрофия (n=30)		Карциноми (n=30)		P
	n	%	n	%	n	%	
Пол							0,577
Мъже	12	52,2	14	46,7	18	60,0	
Жени	11	47,8	16	53,3	12	40,0	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	
Възраст (години)	64,52	9,44	60,80	11,36	65,47	8,27	0,272

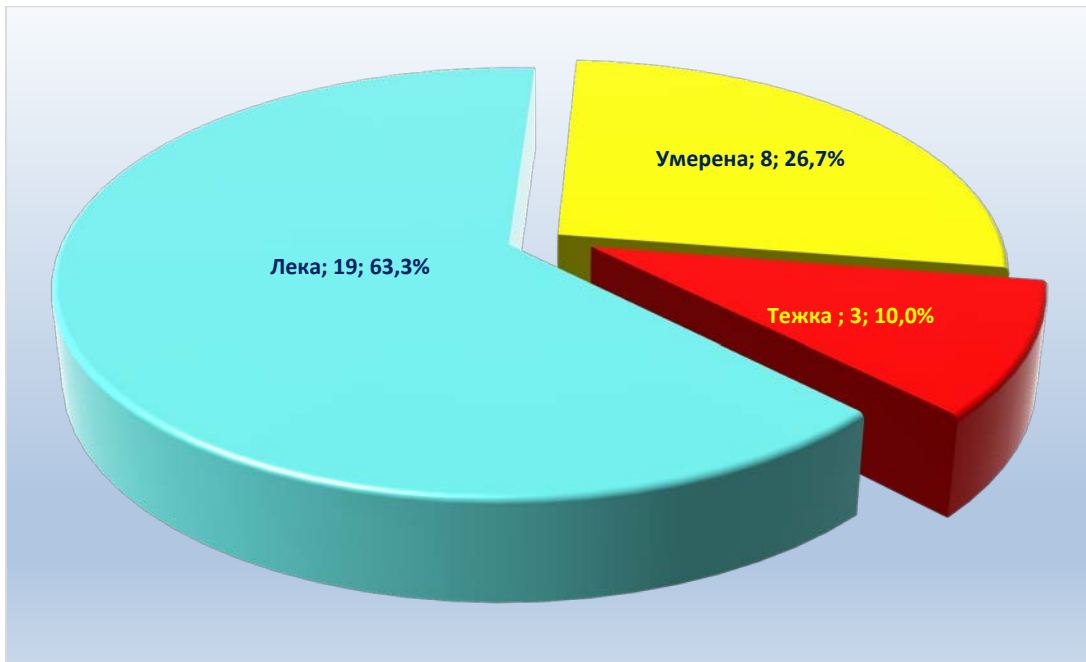
* - еднаквите букви по хоризонталата означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава (p < 0,05)

3. Вътрегрупов анализ на пациентите с атрофия (II група, общо 30 лица)

3.1. Разпределение според степента на атрофията

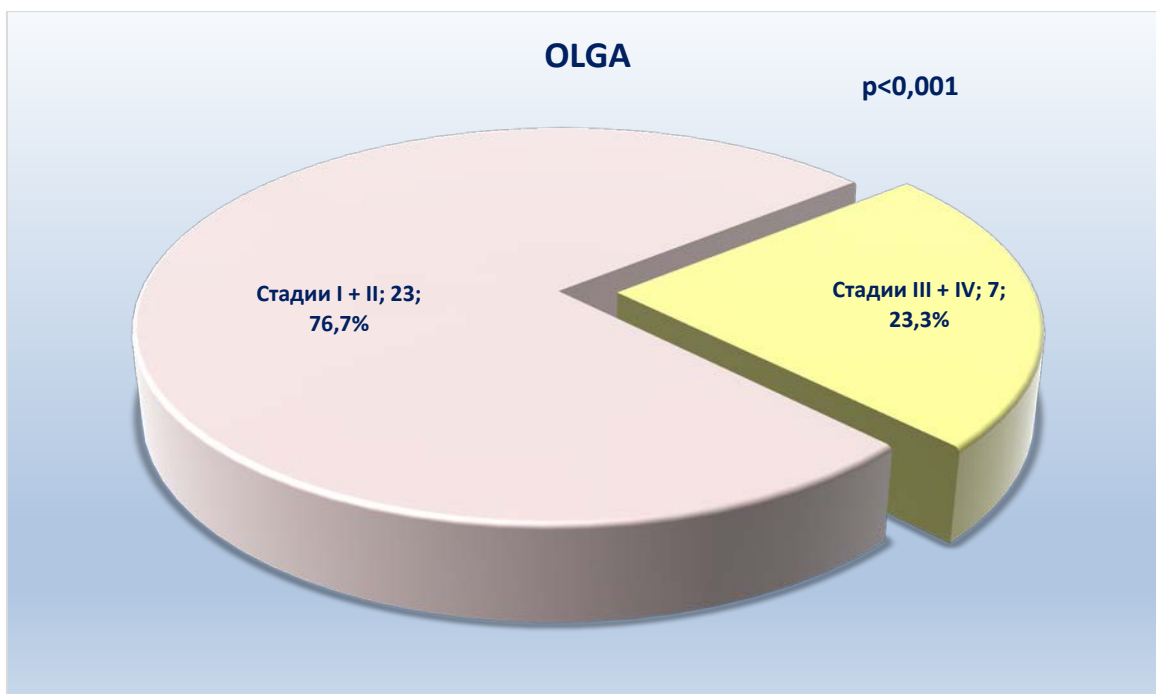
На фиг. 19 се вижда, че:

- С най-голям относителен дял (63,3%) са пациентите с лека атрофия, следвани от тези със умерена – 26,7%;
- Най-малко (3 или 10%) са с тежка атрофия.



Фигура 19. Честотно разпределение на пациентите спрямо стадия на атрофия

Освен конвенционалното стадиране на атрофията, приложихме и класифициране на пациентите, според OLGA критериите. В ниско рисковите стадии - I/II бяха определени 23 (76.7%) от група „Атрофия“. Критериите за високорискови стадии (III/IV) за аденокарцином на стомаха, покриха 7 (23.3%) от пациентите в същата група (фиг. 20)



Фигура 20. Сравнителен анализ на ниско и високорисковите стадии при OLGA

3.2. Разпределение на пациентите с интестинална метаплазия, сред група „Атрофия“

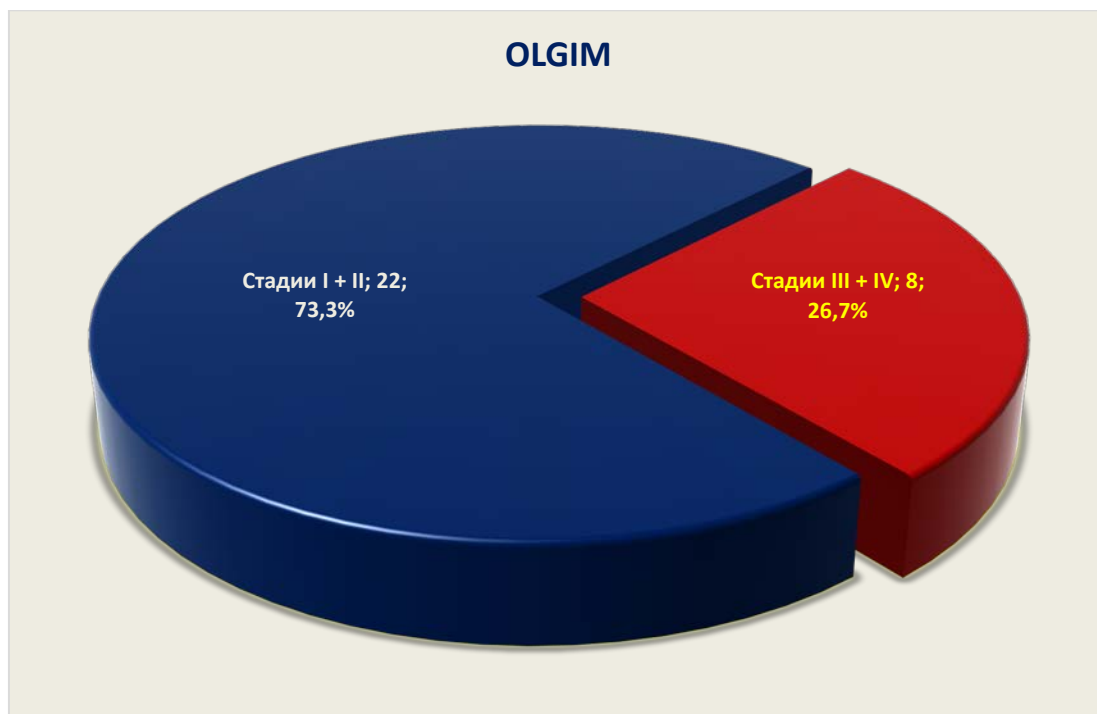
На фиг. 21 се вижда, че в групата с атрофия:

- С най-голям относителен дял (50%) са пациентите с I тип, пълна интестинална метаплазия, следвани от тези при които липсва метаплазия (9 или 30%);
- При 4 (13.3%) метаплазията е от непълен (дебелочревен) тип.
- Най-малко са имащите III тип смесена ИМ – 6,7%.

Според OLGIM класификацията, в нискорисковите (I/II) стадии попадат 22 (73.3%), а във високорисковите (III/ IV) – 8 (26.7%)(фиг.22)



Фигура 21. Честотно разпределение на пациентите с атрофия според типа ИМ

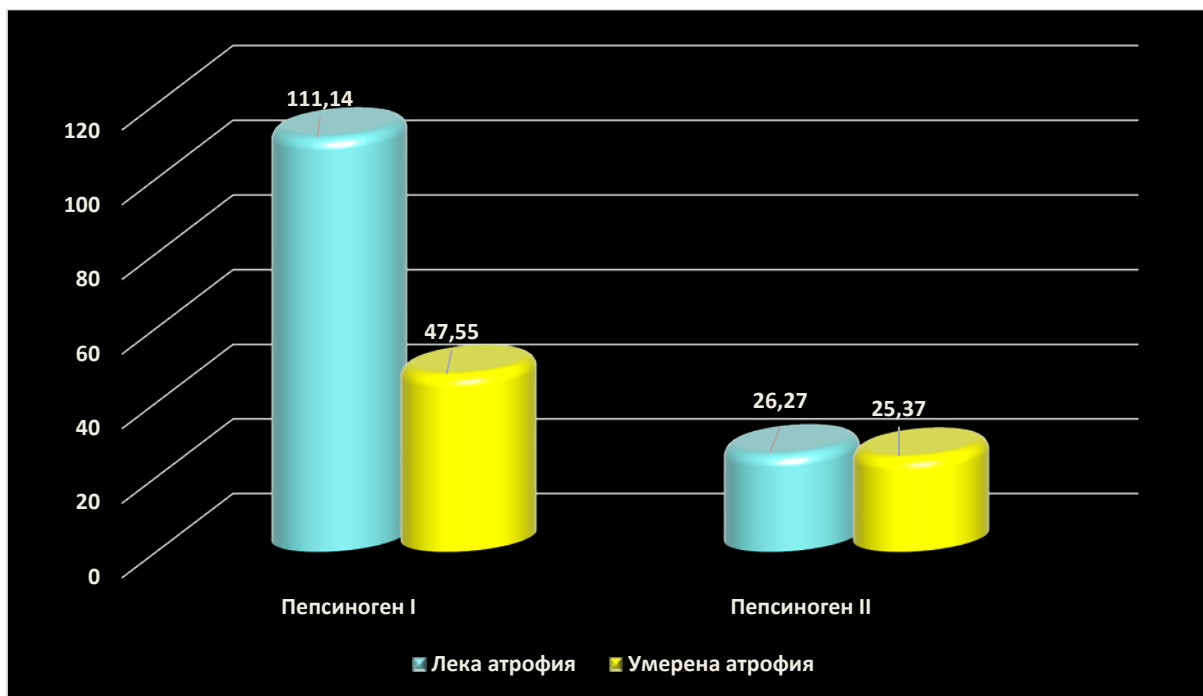


Фигура 22. Сравнителен анализ на ниско и високорисковите стадии при OLGIM

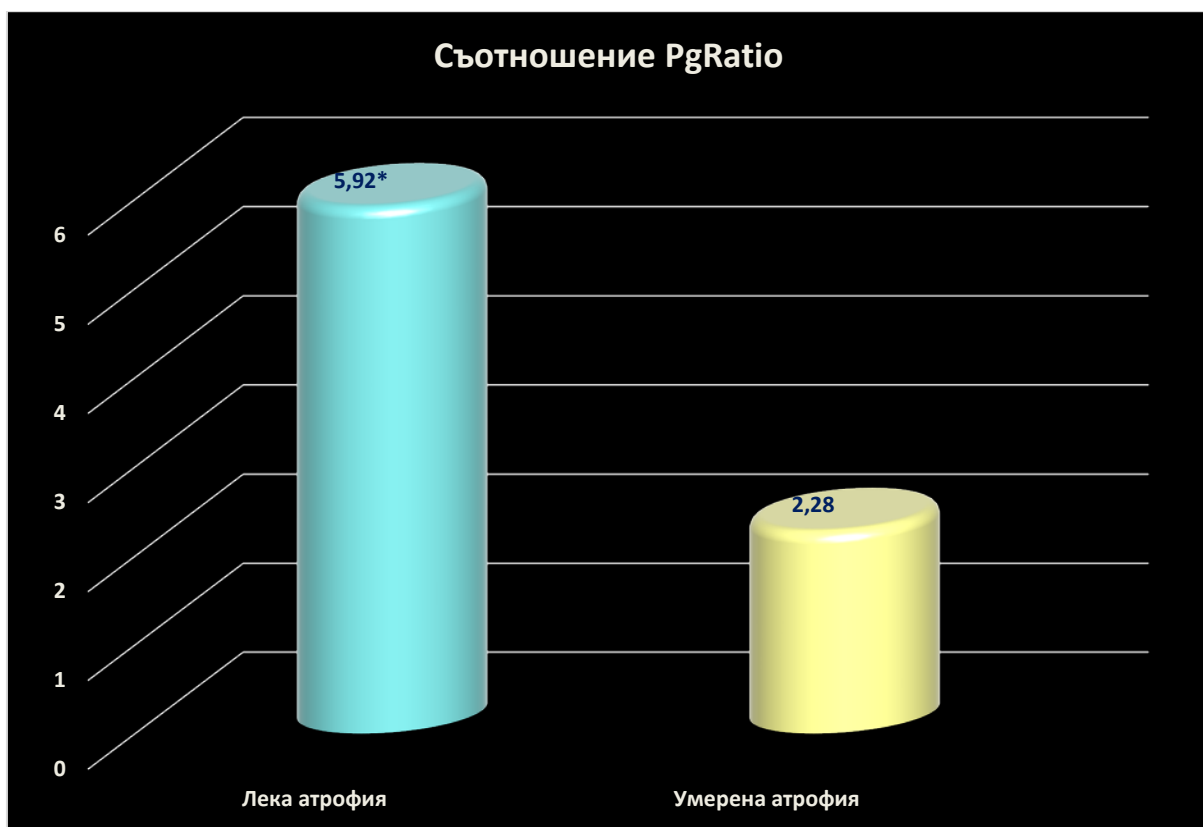
3.3. Оценка на зависимостта между степента на атрофия и серологичните стойности

Проведеният анализ на зависимостта между хистологично потвърдената атрофия и показателите пепсиноген I, пепсиноген II и съотношение PgRatio установи, че (фиг. 23-24):

- Пациентите със умерена степен на атрофията имат сигнификантно по-високи средни стойности на серологичния маркер пепсиноген I и съотношението PgRatio спрямо тези с лека степен;
- Според серологичния маркер пепсиноген II, няма статистически значима разлика между пациентите с лека и тези с умерена степен на атрофия. (Табл.2)
- Малкият брой на пациентите с тежка атрофия (3) не ни даде възможност, тази категория да участва в анализа, поради липса на статистическа достоверност.



Фигура 23. Сравнителен анализ на средните величини на изследваните серумни биомаркери при лека и средна атрофия



Фигура 24. Сравнителен анализ на средните величини на съотношението PgRatio при лека и средна атрофия

Таблица 2. Анализ на зависимостта между хистологично потвърдена атрофия и показателите пепсиноген I, пепсиноген II и съотношение PgRatio

Показател	Хистологично потвърдена атрофия	n	$\bar{X}$	SD	P
Пепсиноген I	Лека	19	111,14	75,06	<0,001
	Умерена	8	47,55	14,23	
	Тежка*	3	71,04	62,35	
Пепсиноген II	Лека	19	26,27	17,11	0,979
	Умерена	8	25,37	12,96	
	Тежка*	3	24,58	15,99	
Съотношение PgRatio	Лека	19	5,92	4,36	0,025
	Умерена	8	2,28	1,01	
	Тежка*	3	6,62	9,58	

* тази категория не участва в анализа поради липса на статистическа представителност

3.4. Оценка на зависимостта между степента на интестинална метаплазия и серологичните стойности

Аналогично на зависимостите при хистологично потвърдена атрофия и стойности на биомаркерите, направихме анализ на зависимостта между интестинална метаплазия и показателите пепсиноген I, пепсиноген II и съотношение PgRatio. При оценка на тази връзка, бяха включени категориите „Липсва“ (9 лица) и „I тип, пълна“ метаплазия (15 лица). Категориите „II тип, непълна“ и „III тип, пълна“ не бяха включени в анализа, поради малкия брой пациенти включени в тях и липсата на статистическа представителност. (Табл. 3 и фиг. 25)

Таблица 3. Анализ на зависимостта между интестинална метаплазия и показателите пепсиноген I, пепсиноген II и съотношение PgRatio

Показател	Интестинална метаплазия	n	$\bar{X}$	SD	P
Пепсиноген I	Липсва	9	142,17	98,29	0,057
	I тип, пълна	15	68,18	38,08	
	II тип, непълна*	4	57,45	17,07	
	III тип, смесена*	2	86,55	14,86	
Пепсиноген II	Липсва	9	33,40	15,86	0,034
	I тип, пълна	15	20,64	11,71	
	II тип, непълна*	4	25,20	13,33	
	III тип, смесена*	2	32,37	38,65	
Съотношение PgRatio	Липсва	9	4,93	4,20	0,815
	I тип, пълна	15	5,21	4,88	
	II тип, непълна*	4	2,83	1,64	
	III тип, смесена*	2	8,36	9,52	

* тази категория не участва в анализа поради липса на статистическа представителност

От направения анализ установихме, че по показателя пепсиноген I, разликата между средните стойности на групата при която липсва ИМ и групата при която е на лице ИМ (I тип, пълна) е с гранична сигнификантност. От фиг. 25

се вижда, че стойностите на маркера намаляват значително с появата на метаплазия;

- при пепсиноген II, отчитаме статистически значима разликата между средните стойности на двете категории, като по-голяма величина се установява при пациентите при които липсва метаплазия, в сравнение с тези с I тип пълна ИМ;
- докато при съотношението PgRatio разликата е статистически нищожна.



Фигура 25. Сравнителен анализ на средните величини на изследваните серумни биомаркери при липса и тип I пълна интестинална метаплазия

Анализ на зависимостта между дисплазия и показателите пепсиноген I, пепсиноген II и съотношение PgRatio не можа да бъде осъществен поради това, че само една от категориите (липсва) е със статистическа представителност. (Табл. 4).

Таблица 4. Анализ на зависимостта между дисплазия и показателите пепсиноген I, пепсиноген II и съотношение PgRatio

Показател	Дисплазия	n	$\bar{X}$	SD	P
Пепсиноген I	Липсва	29	90,49	69,30	-
	Low grade	1	80,78	.	
Пепсиноген II	Липсва	29	25,41	15,58	-
	Low grade	1	38,77	.	
Съотношение PgRatio	Липсва	29	5,12	4,66	-
	Low grade	1	2,08	.	

3.5. Анализ на зависимостта между серумни маркери и OLGA/OLGIM стадия

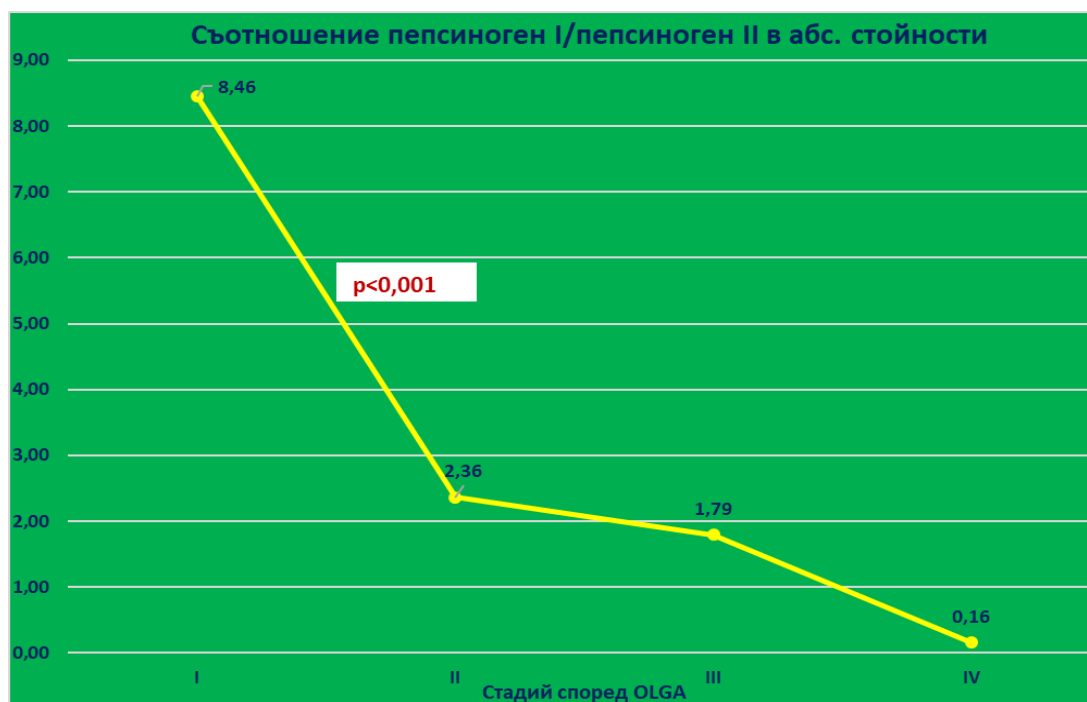
Разгледахме корелацията между стойностите на биомаркерите и стадия на пациентите спрямо системите за оценка на риска от стомашен аденокарцином OLGA/OLGIM.

Резултатите от фиг. 26 и 27 показват, че:

- С увеличаването на стадия според OLGA стойностите на биомаркера пепсиноген I и съотношението пепсиноген I/пепсиноген II бележат перманентен спад;
- Разликата между средните стойности на тези показатели при стадии I и II е статистически значима ($p= 0.001$). При стадии III и IV, резултатът не е статистически значим, но се наблюдава тенденция за намаляване стойността на пепсиноген I с нарастване на стадия според OLGA. (фиг. 26)
- При съотношението пепсиноген I/пепсиноген II се наблюдава статистически значимо намаляване на стойността, при I и II OLGA стадии ($p<0.001$). При III и IV стадии също се наблюдава понижениe на стойностите, без да е статистически значимо (фиг.27)



Фигура 26. Динамика на средните стойности на пепсиноген I според стадия по OLGA

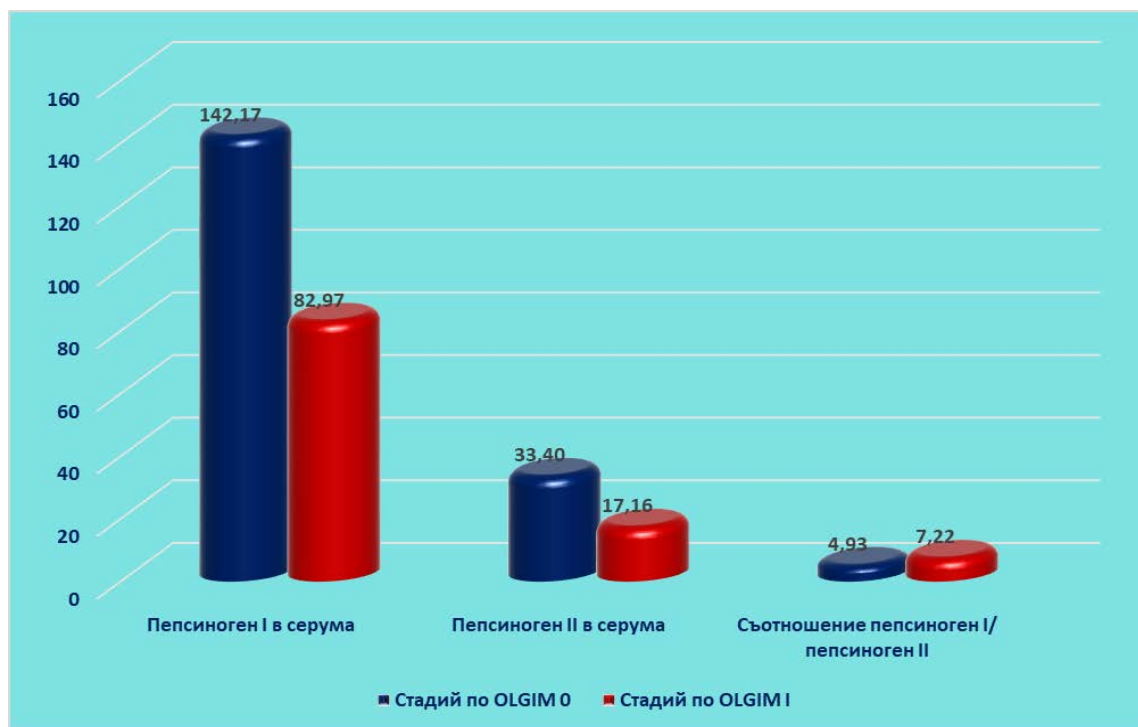


Фигура 27. Динамика на средните стойности на съотношението пепсиноген I/пепсиноген II според стадия по OLGA

Аналогично сравнихме стойностите на пепсиногените с OLGIM стадия. От показаното на фиг. 28 следва, че:

- Разликата между пациентите със стадии 0 и I по OLGIM според средните стойности на биомаркера пепсиноген II е статистически достоверна, като значимо по-високата стойност е на имащите стадий 0 (липса на метаплазия).

- При пепсиноген I по-високата средна стойност също е на пациентите със стадий 0, докато при съотношението пепсиноген I/пепсиноген II – по-високи са стойностите при стадий I, според OLGIM, но разликите са статистически нищожни.

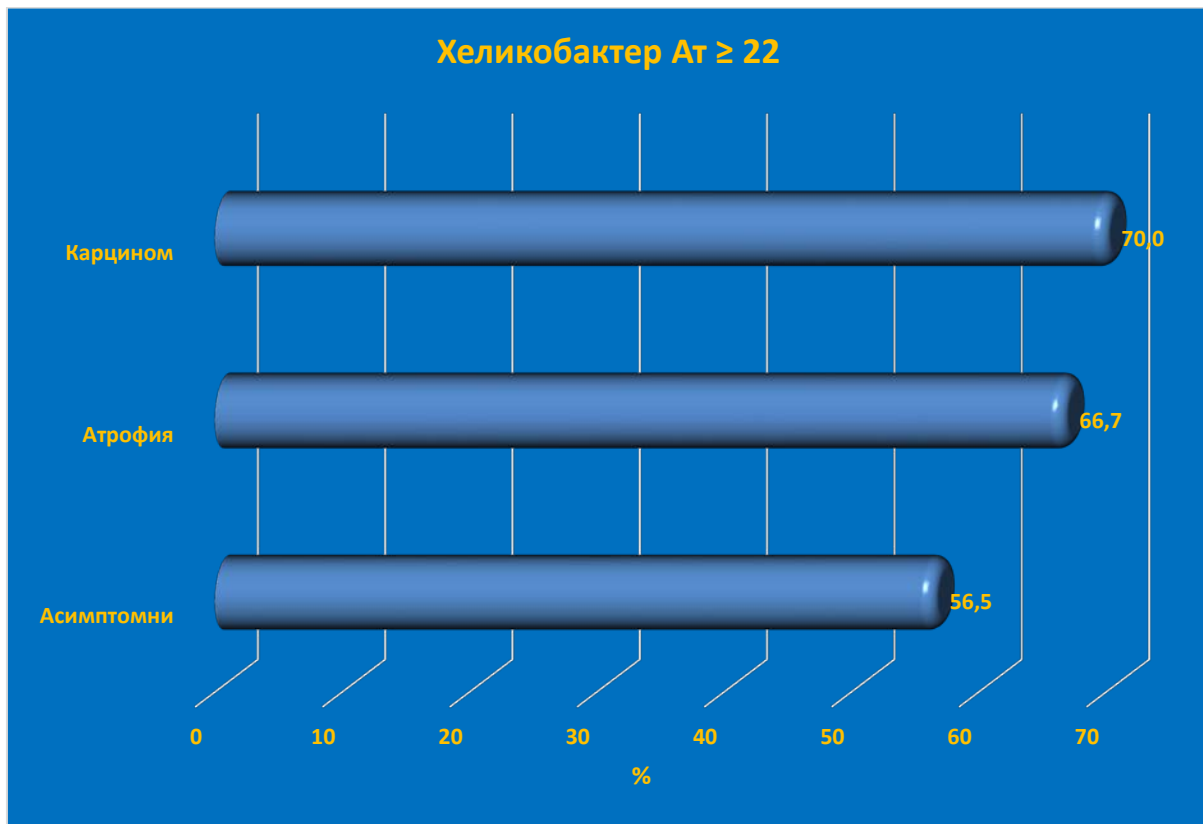


Фигура 28. Динамика на средните стойности на Пепсиноген I, Пепсиноген II и съотношение пепсиноген I/пепсиноген II според стадия по OLGIM

3.6. Оценка на Хеликобактер пилори инфекция

3.6.1. Анализ на разпространението на Хеликобактер пилори антитяло IgG сред изследваните групи

От фиг. 29 се вижда, че най-голям процент на положителни за HpAb IgG има сред пациентите с аденокарцином на стомаха (70%), следвани от пациентите от група „Атрофия“ (66.7%) и най-малък процент сред асимптомните пациенти.



Фигура 29. Положителни за Хеликобактер At при трите групи на изследване

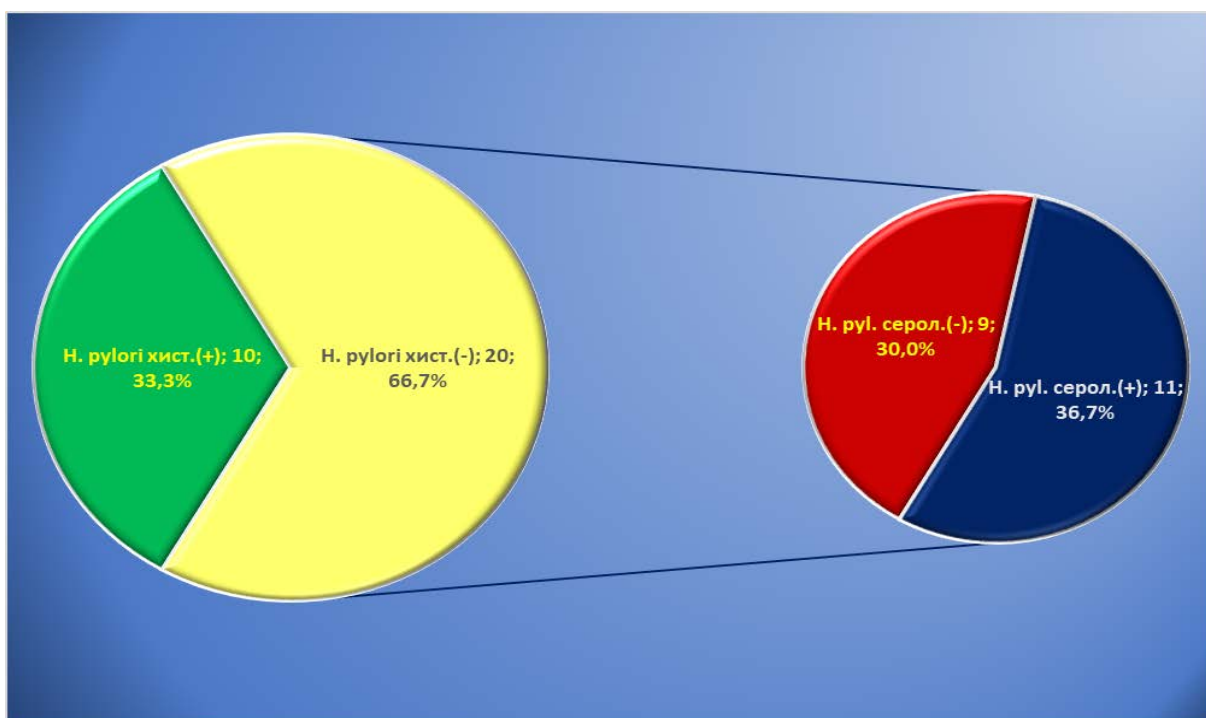
3.6.2. Анализ на зависимостта между серумния маркер Helicobacter pylori антитяло и хистологичния материал, в група „Атрофия“.

От табл. 5 се вижда че от пациентите с потвърдена атрофия, при 20 лица, Helicobacter pylori не се открива в хистологичния материал.

Таблица 5. Анализ на зависимостта между серумен маркер за *H. pylori* и хистологичен материал

Хистологичен материал	Серумен маркер за <i>H. pylori</i>			P
	n	$\bar{X}$	SD	
Липсва	20	99,81	106,41	-
1+	4	97,93	91,09	
2+	4	137,71	119,98	
3+	2	134,64	136,59	

Според нашите данни *Helicobacter pylori*, се открива хистологично в 10 (33,3%) от пациентите. От друга страна от тези 20, при които хистологично липсва, серологично *Helicobacter pylori* позитивира при 11 (36.7%) пациенти (фиг.30).



Фигура 30. Честотно разпределение на пациентите по *H. pylori* хистологично и серологично

3.6.3. Оценка на зависимостта между серумните маркери и някои фактори – пол, възраст и *H. pylori* инфекция

3.6.4. Оценка влиянието на фактора „възраст“

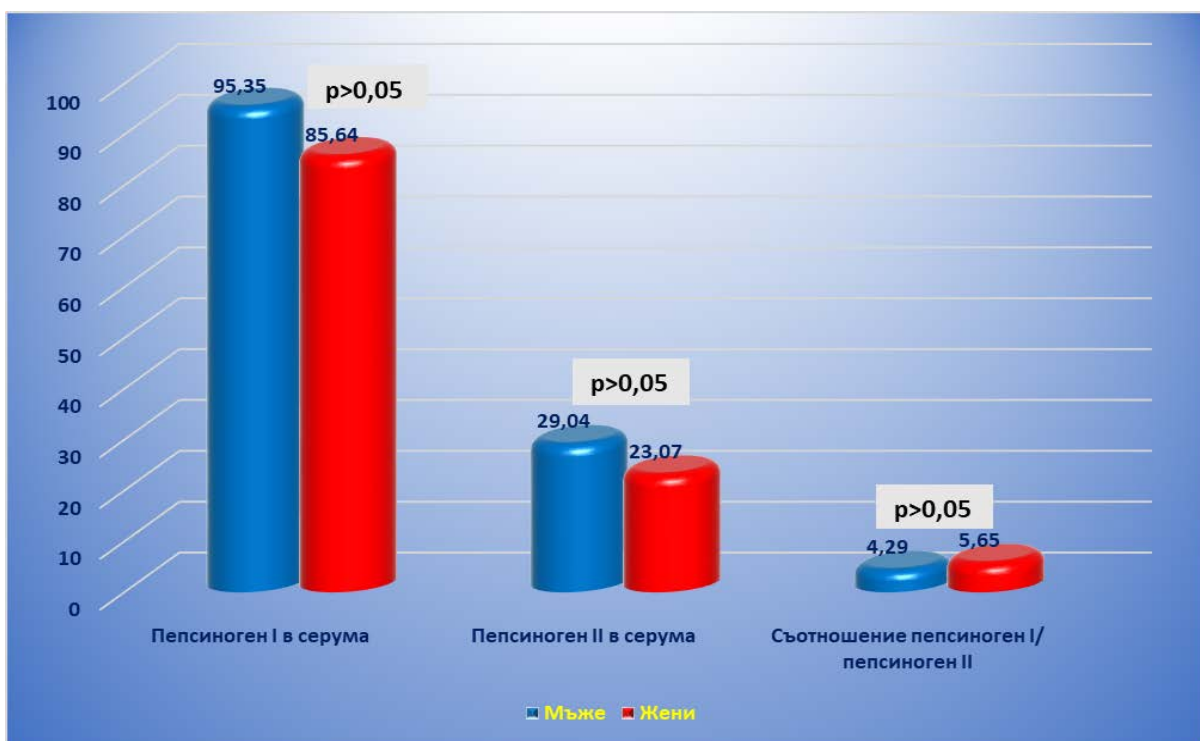
На Табл.6 се вижда, че няма статистически достоверна зависимост между стойностите на биомаркерите пепсиноген I, пепсиноген II и съотношението пепсиноген I/пепсиноген II и възрастта.

Таблица 6. Корелационни коефициенти между възрастта и биомаркерите пепсиноген I, пепсиноген II и съотношение пепсиноген I/пепсиноген II

Показател	Статистически параметър	Възраст (години)
Пепсиноген II	Spearman's rho	-0,332
	p	0,073
Пепсиноген II	Spearman's rho	-0,120
	p	0,529
Съотношение пепсиноген I/пепсиноген II	Spearman's rho	-0,128
	p	0,501

3.6.5. Оценка на влиянието на фактора „пол“

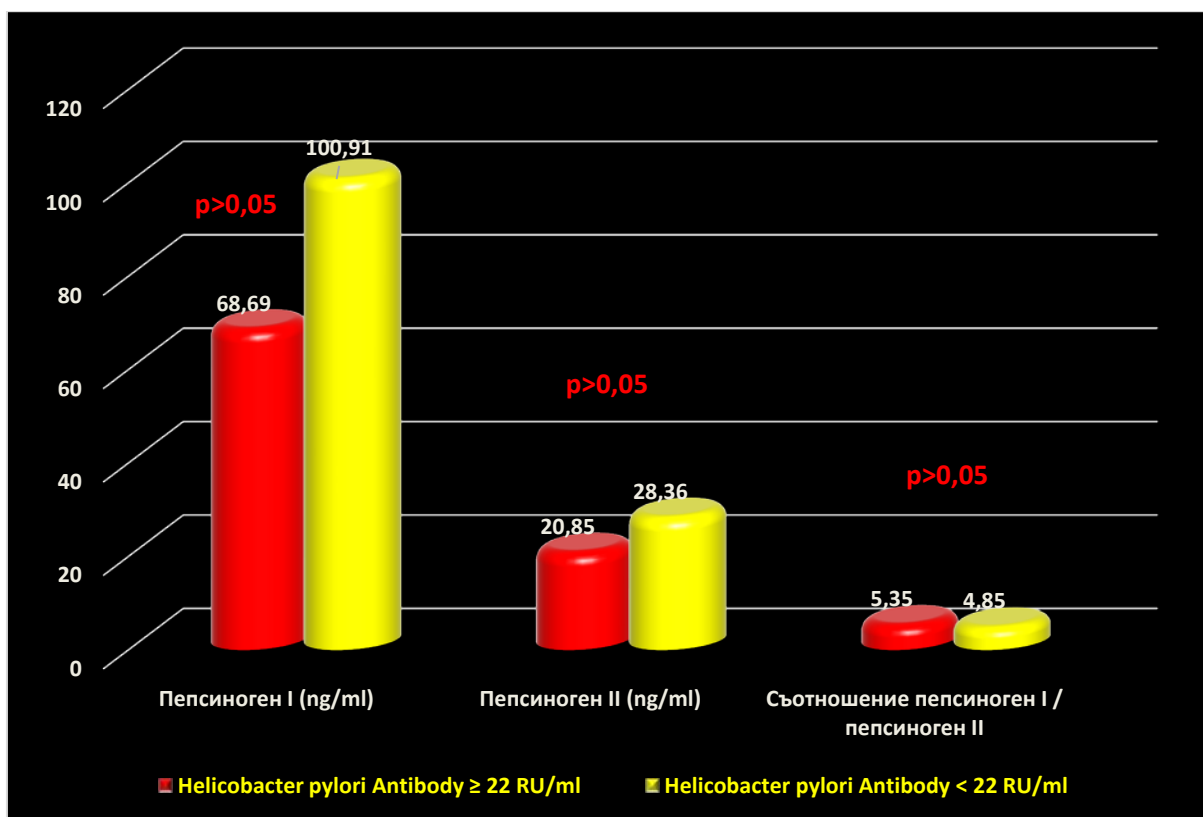
Не установихме статистически достоверна зависимост между стойностите на пепсиногените и пола на изследваното лице. (Фиг.31)



Фигура 31. Сравнителен анализ на средните стойности на пепсиноген I, пепсиноген II и съотношение пепсиноген I/пепсиноген II според половата принадлежност

3.6.6. Оценка на влиянието на фактора “*Helicobacter pylori*”

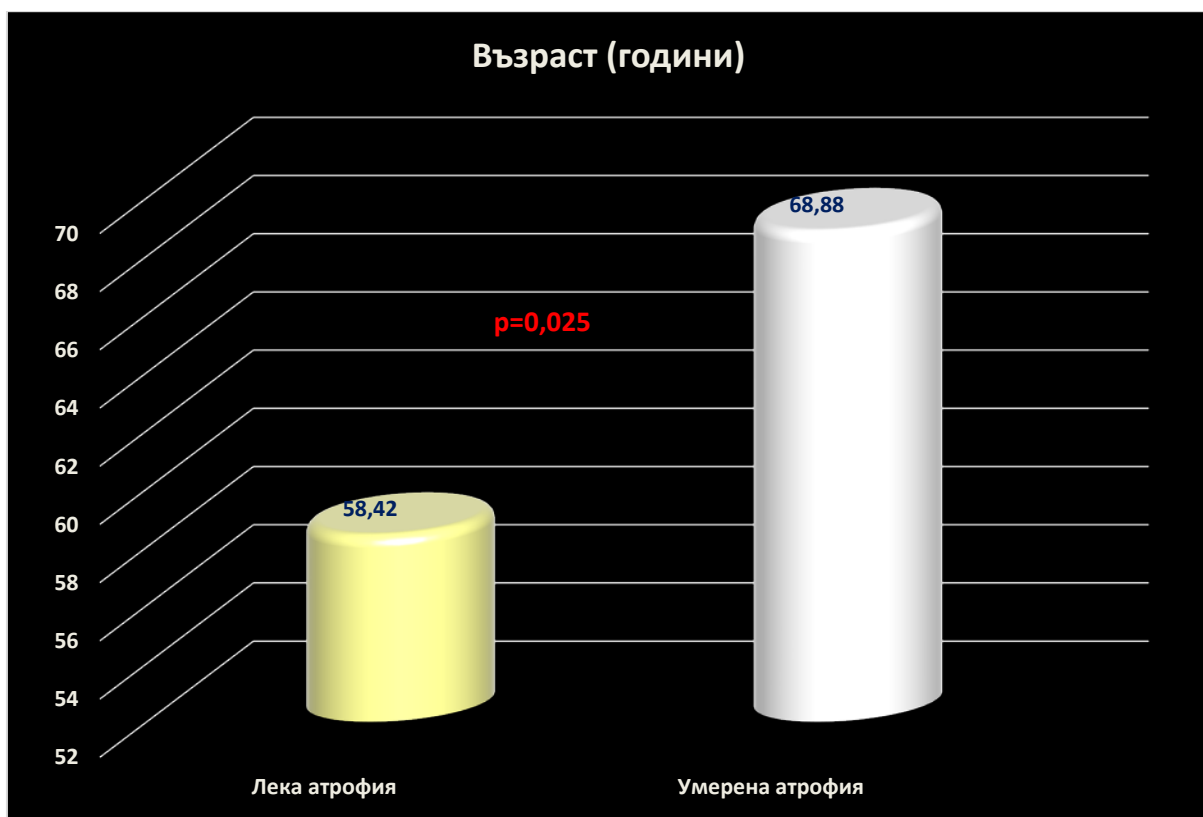
Нашето проучване не установи сигнификантна разлика между пациентите с положителен и отрицателен Хеликобактер пилори статус, и серумните стойности на биомаркерите пепсиноген I, пепсиноген II и съотношението пепсиноген I/пепсиноген II. (фиг.32)



Фигура 32. Сравнителен анализ на средните стойности на Пепсиноген I, Пепсиноген II и съотношение пепсиноген I/пепсиноген II според статуса на *H. pylori*

3.7. Оценка на зависимостта между атрофичните промени и някои фактори

Проведеният анализ на зависимостта между хистологична атрофия и количествените показатели възраст, хемоглобин, среден обем на еритроцитите, серумно желязо и CRP установи, че възрастта на пациентите с умерена степен на атрофията е по-висока от тази на имащите лека степен ($p=0,025$). При показателя CRP установихме гранична значимост при „лека“ атрофия в сравнение с „умерена“ ($p<0.058$) (Фиг. 33).



Фигура 33. Сравнителен анализ на пациентите с лека и средна атрофия по показателя възраст.

При останалите показатели разликата между статистически представителните категории на атрофията са статистически нищожни.

Като следваща стъпка беше проведен анализ на зависимостта между атрофията и изследваните категорийни показатели. На таблици 7 - 10 се вижда, че при нито един от тези показатели не бе установена статистически достоверна зависимост.

Таблица 7. Анализ на зависимостта между атрофията и изследваните категорийни показатели (част I)

Показател	Честота	Атрофия			Р
		Лека	Умерена	Тежка	
Пол					0,257
Мъж	n	9	5	0	
	%	47,4	62,5	0,0	
Жена	n	10	3	3	
	%	52,6	37,5	100,0	
ВМІ					0,263
Нормален	n	12	4	1	
	%	63,2	50,0	33,3	
Наднормен	n	5	1	2	
	%	26,3	12,5	66,7	
Обезитет	n	2	3	0	
	%	10,5	37,5	0,0	
Образование					0,541
Средно	n	12	6	1	
	%	63,2	75,0	33,3	
Висше	n	7	2	2	
	%	36,8	25,0	66,7	
Социален статус					1,000
Живее сам	n	3	1	0	
	%	15,8	12,5	0,0	
Повече от 1 член	n	16	7	3	
	%	84,2	87,5	100,0	
Артериална хипертония					0,060
Не	n	11	1	1	
	%	57,9	12,5	33,3	
Да	n	8	7	2	
	%	42,1	87,5	66,7	
Захарен диабет					1,000
Не	n	16	7	3	
	%	84,2	87,5	100,0	
Да	n	3	1	0	
	%	15,8	12,5	0,0	
Фамилна история за рак на стомаха					0,782
Не	n	16	6	3	
	%	84,2	75,0	100,0	
Да	n	3	2	0	
	%	15,8	25,0	0,0	
Друго онкологично заболяване на изследваното лице					0,424
Не	n	18	6	3	
	%	94,7	75,0	100,0	
Да	n	1	2	0	
	%	5,3	25,0	0,0	

Таблица 8. Анализ на зависимостта между атрофията и изследваните категорийни показатели (част II)

Показател	Честота	Атрофия			Р
		Лека	Умерена	Тежка	
Тютюнопушене					0,876
Никога	n	14	5	2	
	%	73,7	62,5	66,7	
Бивш пушач	n	1	1	0	
	%	5,3	12,5	0,0	
Настоящ пушач	n	4	2	1	
	%	21,1	25,0	33,3	
Алкохолна консумация повече от 14 UI седмично					0,782
Не	n	16	6	3	
	%	84,2	75,0	100,0	
Да	n	3	2	0	
	%	15,8	25,0	0,0	
Употреба на сол на масата					0,228
Никога не соли	n	5	2	3	
	%	26,3	25,0	100,0	
Понякога соли	n	9	3	0	
	%	47,4	37,5	0,0	
Почти винаги/винаги соли	n	5	3	0	
	%	26,3	37,5	0,0	
Консумация на плодове/зеленчуци седмично					0,110
По рядко от всеки ден	n	10	6	0	
	%	52,6	75,0	0,0	
Всеки ден	n	9	2	3	
	%	47,4	25,0	100,0	
Консумация на люти/пикантни храни					0,848
Рядко	n	12	6	2	
	%	63,2	75,0	66,7	
Често	n	7	2	1	
	%	36,8	25,0	33,3	
Оплакване от стомашна болка					0,867
Не	n	8	4	2	
	%	42,1	50,0	66,7	
Да	n	11	4	1	
	%	57,9	50,0	33,3	
Чувство на парене зад гръдната кост					0,703
Не	n	13	7	2	
	%	68,4	87,5	66,7	
Да	n	6	1	1	
	%	31,6	12,5	33,3	
					0,117

Рефлукс					
Не	n	14	3	1	
	%	73,7	37,5	33,3	
Да	n	5	5	2	
	%	26,3	62,5	66,7	

Таблица 9. Анализ на зависимостта между атрофията и изследваните категорийни показатели (част III)

Показател	Честота	Атрофия			Р
		Лека	Умерена	Тежка	
MCV					0,662
< 82fl	n	2	2	0	
	%	10,5	25,0	0,0	
82 – 96 fl	n	16	5	3	
	%	84,2	62,5	100,0	
> 96 fl	n	1	1	0	
	%	5,3	12,5	0,0	
Намалено серумно желязо под 6,6 $\mu\text{mol/l}$					1,000
Не	n	17	7	3	
	%	89,5	87,5	100,0	
Да	n	2	1	0	
	%	10,5	12,5	0,0	
CRP ≥ 5 mg/L					1,000
Не	n	16	7	3	
	%	84,2	87,5	100,0	
Да	n	3	1	0	
	%	15,8	12,5	0,0	

Таблица 10. Анализ на зависимостта между хистологично потвърдена атрофия и показателите възраст, хемоглобин, среден обем на еритроцитите, серумно желязо и CRP

Показател	Хистологично потвърдена атрофия	n	$\bar{X}$	SD	P
Възраст	Лека	19	58,42	11,28	0,025
	Умерена	8	68,88	7,77	
	Тежка*	3	54,33	11,72	
Хемоглобин	Лека	19	138,16	15,52	0,887
	Умерена	8	137,25	13,79	
	Тежка**	3	142,00	1,00	
Среден обем на еритроцитите	Лека	19	86,97	7,46	0,515
	Умерена	8	86,44	7,02	
	Тежка	3	88,00	3,50	
Серумно желязо	Лека	19	12,72	4,93	0,958
	Умерена	8	12,59	7,92	
	Тежка*	3	21,73	5,47	
CRP	Лека	19	2,72	2,95	0,058
	Умерена	8	1,79	2,72	
	Тежка*	3	3,07	0,72	

* тази категория не участва в анализа поради липса на статистическа представителност

V. ОБСЪЖДАНЕ

Ракът на стомаха е петият най-често срещан малигном и се нарежда на трето място като водеща причина за смъртност от онкологични заболявания в света. Прогнозата е лоша със средна 5-годишна преживяемост под 20%, главно поради факта, че много често заболяването се диагностицира в напреднал стадий. Откриването на ранните форми е предизвикателство, тъй като много от пациентите са безсимптомни в началото на процеса. Интестиналният тип аденокарцином на стомаха, представлява крайния стадий на последователност описана като каскада на Correa. Този процес започва като хронично възпаление на мукозата, преминава през метапластична трансформация, дисплазия и завършва с появата на стомашен карцином. Пациентите с хроничен атрофичен гастрит и интестинална метаплазия са с повишен риск да развият СК. ЕГС е „златен стандарт“ в диагностиката на преканцерозните лезии, но изследването е скъпо, инвазивно и неприятно за пациентите. В последните години все повече изследователи насочват вниманието си към търсене на неинвазивни маркери за стратифицирането на пациентите в риск. Оценката на степента на атрофия трябва да става по утвърдени критерии и според международно признати класификации.

В нашето проучване за първи път в България беше извършено сравнение между стойностите на серумните нива на пепсиноген I, пепсиноген II и Хеликобактер пилори антитяло от клас IgG (посредством посредством „сандвич“ ELISA – метод) и морфологичната находка при пациенти с атрофични промени в стомашната мукоза. Освен това направихме пилотно проучване относно серумните стойности на Пепсиногените, при асимптомни пациенти и при такива с хистологично потвърден аденокарцином на стомаха.

По отношение стойностите на PglI сред трите групи – „Асимптомни“, „Атрофия“ и „Карциноми“ (съответно – 100.44ng/ml, 90.17ng/ml 109.77ng/ml.)

установихме най - ниско ниво на маркера при група Атрофия“, без този резултат да има статистическа значимост.

Серумни стойности на пепсиногените се обсъждат като „серологична биопсия на стомашната мукоза“. Понижаването нивата на P_gI, се свързва с изчезване на стомашните жлези, които продуцират маркера, което може да индикира наличие на атрофия на стомашната мукоза и повишен риск от развитие на СК. От друга страна наличието на аденокарцином в стомашната лигавица не е задължително да бъде придружено с ниско ниво на маркера, тъй като P_gI е маркер за атрофия, а не за карцином.

Различни литературни източници описват наличие на стомашна неоплазия при негативен тест за пепсиногени, в зависимост от формата и локализацията на карцинома, както и от състоянието на мукозата около процеса. Развитието на аденокарцинома в кардията или пилора, не би довело до изчезване на главните клетки в стомашната мукоза, респективно P_gI може да остане в норма.

В нашето проучване стойностите на P_g II показаха значимо намаляване с наличието на аденокарцином, в сравнение с останалите две групи.

Нашите резултати от изследването на sPGr, не показаха зависимост между понижаването нивото на sPGr и наличието на карцином или атрофия.

Тези резултати се дължат най-вероятно на факта, че теста за пепсиногени (P_gI, P_gII, sPGr) има отношение към наличието на атрофия в стомашната мукоза, респективно повишен риск от СК, а не със самата неоплазма. От направения анализ на данните, може да заключим, че пепсиногените имат по добра диагностична стойност за ХАГ отколкото за аденокарцином на стомаха.

Поради тази причина P_Gs се препоръчват като маркери за стратифициране на таргетна група пациенти с преканцерозни лезии, които да бъдат насочени за ендоскопско изследване и проследяване, а не като маркери за туморна инвазия.

По отношение на стойностите на пепсиногените при асимптомната група и при групата с хистологично потвърдена атрофия, не установихме значима разлика. Този резултат може да се дължи на няколко факта.

В хода на статистическата обработка на данните, се наложи да отпаднат седем лица от група „Атрофия“, с цел изключване на замъгляващите фактори и коректност на сравненията. Това доведе до намаляване броя на лицата в тази, група, което трябва да се има в предвид при анализа на резултатите относно стойностите на пепсиногените при асимптомните лица и при пациентите с атрофия.

От друга страна, при направената от нас литературна справка не открихме точни данни за разпространението на атрофичния гастрит в България. Разпространението на ХАГ в световен мащаб варира между 31% и 34%, а спрямо честотата за рак на стомаха, страните от Източна Европа се нареждат на второ място по брой новорегистрирани случаи на година след Източноазиатските държави. Освен това над половината от световното население е заразено с *Helicobacter pylori*, който е основен причинител на хроничния гастрит с/без атрофия. За страните от Източна Европа стойностите са подобни. Вземайки предвид тези данни, както и здравния статус и някои диетични навици на българското население, трябва внимателно да се интерпретират данните за стойностите на пепсиногените при асимптомните пациенти от нашето проучване.

Тъй като асимптомните пациенти от нашето проучване не са подложени на ендоскопско изследване, ние не можем да бъдем категорични в наличието на атрофия при тях, въпреки серологичната находка. Липсата на проучвания по тази тема в България затруднява интерпретацията на данните и потвърждава необходимостта от активно търсене на пациентите с преканцерозни лезии.

От направения анализ върху процентното съотношение на положителни за НpAb сред трите групи установихме, че: 70% от пациентите с карцином на

стомаха са HpAb положителни (+), 66.7% от лицата с хистологично потвърдена атрофия са HpAb (+) и 56.5% от асимптомните пациенти са HpAb (+). При анализа на тези стойности трябва да се има предвид спонтаната ерадикация на *Helicobacter pylori*, която настъпва при някои пациенти след продължителна инфекция с бактерия.

В резултат на получените дотук данни, установихме, че пепсиногените трябва да се оценяват като маркер за атрофия, не за карцином и че при оценката на ефекта от Hр инфекцията трябва да се анализират и морфологичните промени в стомаха. Ето защо като следващ етап анализирахме резултатите от група „Атрофия“, която е и таргетна за нашето проучване.

При направения вътрегрупов анализ на пациентите с атрофия се установи, че с най-голям дял са тези с лека степен – 19 (63.3%), следвани от тези с умерена – 8 (26.7%) и най-малък процент са с тежка атрофия – 3 (10 %). Освен стадирането според критериите от Sidney, приложихме и разпределение на пациентите спрямо OLGA скората. Като ниско рискови (I/II ст.) бяха категоризирани 23 (76.7%) от пациентите, а като високорискови (III/IV ст.) – 7 (23.3%) от изследваните лица. Според Sidney, 3-ма пациента са с висок риск от СК, докато критериите за OLGA III/IV стадий покриват 7 пациента.

Подобен анализ направихме и според критерия – интестинална метаплазия. Според OLGIM, като нискорискови (I/II) бяха класифицирани 22, а като високорискови (III/IV) – 8 лица. При ИМ направихме допълнително субтипизиране на лезиите, спрямо вида на продуциращите муцини. Като най-рискови с – непълна метаплазия, ние открихме 4 лица и със смесена – 2-ма. Не открихме данни в литературата, в които да се сравнява диагностичната точност на OLGIM и класификацията по Jass/Fillipe. Най-вероятно това се дължи на факта че в хистохимичното изследване на метаплазията се прилага по-скоро с научни

цели, отколкото в рутинната практика. Въпреки това препоръките ESGE за поведение при III/IV OLGIM стадии и при непълен тип метаплазия са сходни.

Интерес представлява фактът, че като лица с висок риск от СК според OLGA са определени 7, а според OLGIM – 4-ма. Макар и малкия брой на високорисковите лица, да не ни дава възможност за статистическа значимост на резултата, подобна тенденция е описана и от други автори. По тази причина повечето експерти препоръчват независимото използването и на двете скали - OLGA/OLGIM, както направихме и в нашето проучване.

По отношение на корелацията между хистологичната находка и серологичните маркери в група „Атрофия“, статистически достоверни данни установихме за пациентите с „лека“ и „умерена“ степен на атрофия.

Установихме силна статистическа зависимост между понижаването на Pgl ($p < 0.001$) и serum Pgl/PgII ratio ($p < 0.025$), с покачване степента на атрофия на изследваните лица.

В нашето проучване стойностите на PgII не се различават сигнификантно в зависимост от тежестта на атрофията. Този резултат, най-вероятно се дължи на факта че при атрофия обичайно стойностите на този маркер остават стабилни или леко се повишават ако има обостряне на хроничния гастрит, за разлика от стойностите на Pgl, които бележат спад. Като резултат това води до намаляване на съотношението между двата проензима. По тази причина се препоръчва оценката на ефективността на диагностичния ритъм да се прави на база резултатите от Pgl и sPGr.

Аналогично на зависимостите при хистологично потвърдената атрофия и стойностите на биомаркерите, направихме анализ на зависимостта между интестиналната метаплазия и пепсиноген I, пепсиноген II и serum Pgl/PgII ratio. От направения анализ, установихме гранична сигнификантност за пепсиноген I

($p < 0.057$) и значима такава за пепсиноген II ($p < 0.034$). По отношение sPGr не открихме статистически значима разлика.

Нивата на пепсиногените в кръвта изглежда са свързани с функционалното състояние на стомаха, тъй като тяхната роля като метод за „серологична биопсия“ се обсъжда повече от 20 години в научната общност. Според повечето автори атрофичните промени водят до спадане на стойностите на пепсиноген I, докато стойностите на пепсиноген II могат да персистират, тъй като той се произвежда в повече от една зони на стомаха. Много автори проучват ролята на пепсиногените в диагностиката на атрофичния гастрит, но данните по отношение значението на PGs като маркер за ИМ са оскъдни.

Нашите резултати потвърдиха данните и от други автори, според които с понижаване стойностите на PGs, се покачва стадия според OLGA/OLGIM.

Ние установихме значително спадане на серумния PgI и sPGr последователно при лицата от I и II OLGA стадии ($p = 0.001$).

По отношение на OLGIM стадирането и пепсиногените, ние установихме статистически значимо понижение на PgII, между пациентите при които ИМ „липсва“ и при тези с “I тип, пълен “ ИМ. Тези данни кореспондират с данните, при които сравняваме тежестта на хистологичната степен на ИМ и PGs. И при двете сравнения на резултати, се наблюдава статистическа достоверност за PgII. Най-вероятната причина за тези резултати е фактът, че ИМ се появява първо, обичайно в антрума или областта на *incizura angularis*, което може да доведе до по значителен спад в стойностите на PgII спрямо PgI. Повече проучвания по темата биха дали допълнителна светлина върху тази хипотеза.

Интерес представляват резултатите които получихме за Hр. При 10 от лицата с доказана атрофия, Hр се позитивира както серологично така и в хистологичният материал (Таблица 5). Според критериите на Miki et al. тези пациенти би трябвало да попаднат или в група B [Hр(+)/PG(-)] или в група

C[Hr(+)]PG(+)]. И двете групи са положителни за Hр, различават се единствено по PG статуса. Има данни, че пациентите от група В са с повишен риск да развият дифузен тип рак на стомаха. Тази зависимост е по-силна при лицата с висок титър на HрAb, отколкото при тези с нисък или граничен. На този етап възпалителните промени, не водят до функционални такива в стомашната мукоза и се препоръчва тези пациенти незабавно да получат ерадикационна терапия преди да настъпят необратими морфологични преобразувания. Според данните от литературата за тези пациенти се препоръчва ендоскопско проследяване на 2 години.

Пациентите от група C[Hr(+)]PG(+)], имат по-висок риск да развият интестинален тип карцином според Lauren . При тях вследствие продължителната експозиция на Hр инфекцията, се очакват атрофични промени в мукозата с/без интестинална метаплазия. Наличието на атрофия се демонстрира с понижаване стойностите на Pgl и PglI. За тези пациенти отново се препоръчва ерадикационна терапия и ендоскопско проследяване на 2 години поради риска от интестинален тип рак по Lauren .

За да се определи в коя група биха попаднали тези лица трябва да знем праговите стойности на PGs, за да ги класифицираме като PG(+) или PG(-), тъй като стойностите могат да варират в зависимост от географската ширина и етническите особености.

Нашето проучване върху пепсиногените обхваща три групи пациенти с по 30 изследвани лица, които са основно от Северозападна България. Това не ни даде възможност да изследваме праговите стойности на маркерите, тъй като за тази цел проучването би трябвало да бъде многоцентрово и да бъдат включени по-голям брой пациенти, за да бъдат достоверни стойностите от изследването.

Критериите на Miki et al. се позовават единствено на серологична атрофия [PGs (-)], докато в нашето проучване всички лица от група „Атрофия“ са

включени въз основа на хистологична верификация. Всеки един от тези 10 положителен хистологично за Нр и серологично за НрAb, е потвърдена атрофия от патологичното изследване, т.е бихме могли да приемем че тези лица попадат в група C[Нр(+) $\text{PG}(+)$]. Така или иначе и двете групи - B [Нр(+) $\text{PG}(-)$] и C[Нр(+) $\text{PG}(+)$] подлежат на ерадикационна терапия и ендоскопско проследяване поради риска от дифузен или интестинален тип рак. Повишения риск от развитие на СК, при пациенти положителни за атрофия и НрAb (n=10) се дължи на факта че тези лица могат да преминат в най-рисковата група – положителни за атрофия и отрицателни за НрAb, група D според Miki et al.

В нашето проучване при 20 от лицата с атрофия, Нр липсваше в хистологичния материал. При последващия анализ на серологичните проби на тези пациенти, се установи че при 11 от тях, НрAb е положително. Ако се позовем на “ABC” критериите, тези лица би трябвало да попаднат в група D [Нр(-) $\text{PG}(+)$], с най-висок риск от развитие на стомашен карцином (интестинален тип по Lauren). С напредване на атрофичните промени в мукозата, изчезват стомашните жлези, намалява секрецията на P gI и P gII , и се наблюдава хипоацидитет. Според Song и сътр. стойностите на рН на стомашния сок са по-високи при Нр положителни, отколкото при Нр негативни пациенти (4.54 vs. 2.46, $p=0.002$). Сходно с това, количествено Нр е установено в по-голяма степен в групата с рН <3 (21.4%), в сравнение с групата с рН >3 (61.1%) ($p=0.007$). Негостоприемната среда и загубата на нормалната морфолгична структура на стомашната мукоза, води до спонтанно почистване на Нр. За да се случат тези събития се предполага че лигавицата е била изложена на хроничното възпаление вследствие Нр за много дълъг период и атрофичните промени са тежки, включително и с наличие на метапластични такива. Затова тази група се смята за най-рискова за развитие на СК, тъй като според прогресивната хипотеза на Correa, при тези пациенти е налице основа за развитие на дисплазия и карцином.

Пациентите отрицателни хистологично за Нр и с доказана атрофия, могат погрешно да бъдат класифицирани като рискови за Нр(-) стомашен карцином (HPNGC), който е по-рядък и да не бъдат насочени към стриктен ендоскопски контрол. Според данните от литературата 90% от т.нар. „non cardia” GC, са свързани с Нр инфекция. Ето защо наличието на атрофия в стомашната мукоза само по себе си, трябва да бъде алармиращ фактор, за риска от развитие на СК при тези пациенти и подходящото поведение при тях. В тази връзка намаляващите стойности на PGs, които показват корелация с хистологичната находка, трябва да бъдат включени в диагностичното поведение.

По отношение влиянието на някои фактори като пол, възраст и Нр статус, върху стойностите на PGs, не установихме такава зависимост. Данните от литературата по този въпрос са много противоречиви. Според някои автори, PGs намаляват с възрастта и при женския пол, докато при мъжкия пол и инфекция с Нр стойностите могат да бъдат завишени. Нашите данни не показаха такава асоциация, което най-вероятно се дължи на локалните географски и етнически особености.

От нашето проучване се установи статистически значима връзка между възрастта и степента на атрофия. С напредване на възрастта, напредва и атрофията. Тези данни кореспондират с даните от други проучвания.

VI. ИЗВОДИ

1. Понижението на стойностите на пепсиногените корелира с появата на атрофия в стомашната мукоза, но не е белег за наличие на малигнизация. В този смисъл пепсиногените трябва да се използват като неинвазивни маркери за скрининг на пациентите, при които има съмнение за наличие на преканцерозни лезии и трябва да бъдат насочени към последваща ендоскопска и хистологична оценка.
2. Различните системи за класификация на стомашната атрофия и интестиналната метаплазия затрудняват интерпретацията на резултатите. Степента на засягане на мукозата от атрофичните промени определя риска от стомашен карцином и може да бъде оценено с прилагането на OLGA системата за оценка тежестта на гастрита. Използването на OLGA стадирането в рутинната практика може да доведе до по ранно откриване и таргетиране на рисковите групи.
3. Системата за оценка на интестиналната метаплазия OLGIM е консенсусна между патолозите поради широко приетите критерии за метапластична трансформация в мукозата. При използването ѝ трябва да се има в предвид, че наличието на интестинална метаплазия е част от процеса на атрофия. В този смисъл самостоятелното прилагане на OLGIM скалата, може да доведе до погрешно класифициране на пациенти с тежка атрофия, в нисък OLGIM стадии и съответно да бъдат неправилно изключени от проследяващо ендоскопско изследване. Препоръчително е съвместното прилагане на OLGA/OLGIM системите за оценка.
4. Серумните стойности на Pgl и съотношението Pgl/PgII, значително намаляват с прогресиране тежестта на атрофичните промени. Аналогично с покачване на стадия според OLGA, стойността на тези маркери намалява.

Използването на PgI и съотношението PgI/PgII може да послужи като скрининг за пациентите в риск от стомашен карцином.

5. Серумните стойности на PgII, показват значима корелация с наличието на интестинална метаплазия и OLGIM скората на пациентите. Необходими са допълнителни проучвания по този въпрос с оглед оценка на потенциала на маркера за диагностициране на метаплазията.
6. Добавянето на *Helicobacter pylori* антитяло от клас IgG, към методите за оценка на пациентите в риск от стомашен карцином, има висока диагностична стойност. Стратифицирането на пациентите в риск, е свързано с оценка на ефекта, от времето на експозиция на стомашната мукоза от инфекцията с *Helicobacter pylori*. Панела от маркери PgI, PgII, HpAb може да обхване всички групи с потенциална атрофия вследствие влиянието на *Helicobacter pylori*.
7. Стойностите на пепсиногените не се влияят от пола, възрастта и *Helicobacter pylori* статуса на изследваните лица.
8. Необходими са по-големи, мултицентрични проучвания за нашата страна, които да валидират праговите стойности на тези маркери, в зависимост от локалните особености. Това би довело до рутинното им използване в практиката от гастроентеролозите.
9. С напредването на възрастта се покачва степента на атрофия. При формирането на таргетни групи за риск от развитие на преканцерозни лезии и рак на стомаха е от значение възрастта на пациентите.
10. Стила и начина на живот не влияят върху риска от развитие на атрофия и интестинална метаплазия.

VII. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

8.1 Приноси с научно-теоритичен характер

За първи път в България е извършено комплексно изследване на серумните нива на пепсиноген I, пепсиноген II и Хеликобактер пилори антитяло от клас IgG, като стойностите им са съпосатвени с хистологичната находка.

8.2 Приноси с научно-приложен характер

1. Приложени са съвременни скали за оценка на риска от стомашен карцином, според тежестта и степента на засягане на мукозата от атрофия/интестинална метаплазия – OLGA/OLGIM.
2. Проучена е зависимостта между стойностите на биомаркерите и някои особености на изследваните лица като пол, възраст и инфекция с *Helicobacter pylori*.
3. Изработен е синоптичен фиш за работа между гастроентеролози и патолози с унифицирани скали за оценка на ендоскопските и морфологични промени в стомаха.
4. Разработен е и е внедрен в клиничната практика регистър на лицата с преканцерозни лезии, към Клиника по Вътрешни болести, УМБАЛ Света Марина, гр. Плевен.
5. Предложен е примерен алгоритъм за диагностика и проследяване на пациентите с преканцерозни лезии на стомах.

Клиничен фиш

Име.....

Възраст..... ЕГН:..... Пол:.....

Дата:..... ИЗ N:.....

Изпращащ лекар:.....

1. Ендоскопски протокол номер:

Описание на находката:

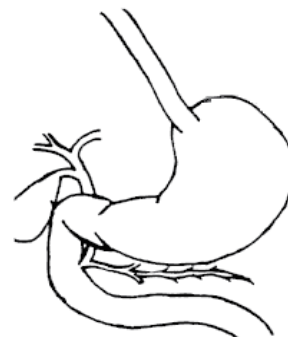
Биопсия от :

Corpus ☐

Antrum ☐

I.angularis ☐

Друга зона ☐



Вероятна клинична диагноза:.....

2. Хистологичен протокол номер:

Предишни биопсични изследвания:

Кога:

Къде:

Резултат от хистологичен материал.....

.....

Атрофия

corpus ☐

antrum ☐

пангастрит ☐

ИМ corpus ☐

ИМ antrum ☐

LG Дисплазия ☐

HG Дисплазия ☐

OLGA I ☐ II ☐ III ☐ IV ☐

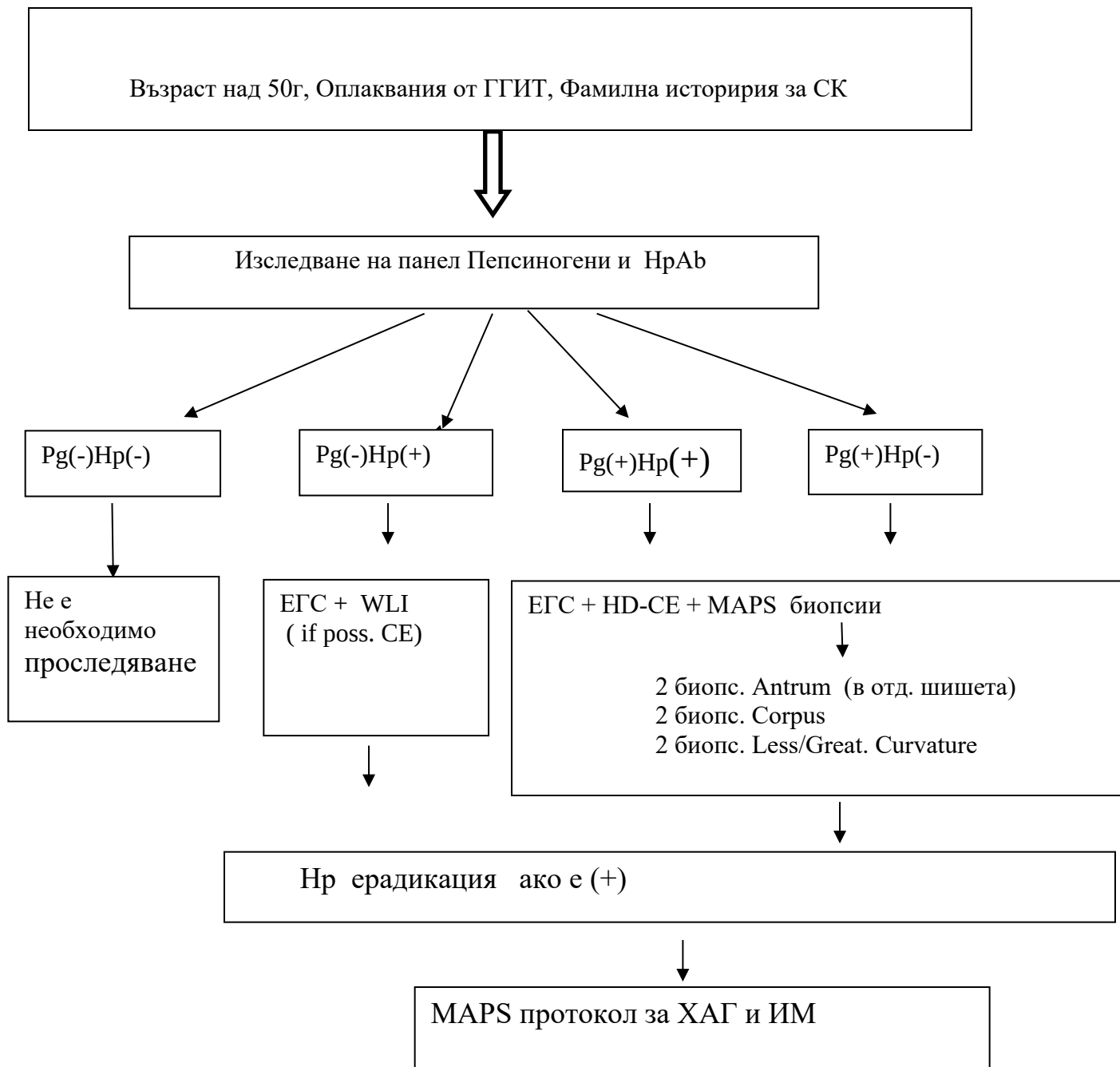
OLGIM I ☐ II ☐ III ☐ IV ☐

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Дата: год.

Д-р :

Алгоритъм



ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Zornica Gorcheva**, Valeriya Racheva, Mirela Vasileva. SERUM PEPSINOGEN I AND PEPSINOGEN II AS NON-INVASIVE BIOMARKERS FOR THE DIAGNOSIS OF CHRONIC ATROPHIC GASTRITIS. *Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers)* 2022 Apr-Jun;28(2):4356-4360 ISSN: 1312-773X
2. **Zornica Gorcheva**. CURRENT UNDERSTANDING OF ATROPHIC GASTRITIS AND INTESTINAL METAPLASIA AS A PREMALIGNANT LESION OF GASTRIC CANCER. *J Biomed Clin Res.*2022;15(2):118-122; ISSN: 1313-6917
3. **Zornica Gorcheva**, Mirela Vasileva. TOTAL EXTENDED GASTRECTOMY IN ADVANCED GASTRIC CANCER – CLINICAL CASE. *J Biomed Clin Res.*2022;15(2):182-186; ISSN: 1313-6917

НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ

1. **Горчева, З.** Серумни биомаркери за оценка тежестта на хроничен атрофичен гастрит и риска от стомашен карцином – VII Национален конгрес за Млади гастроентеролози – 9-11 септември 2022г. София
2. **Горчева, З.** Хроничен атрофичен гастрит и интестинална метаплазия – съвременен поглед върху премалигнените лезии на стомаха – VI Конгрес за млади гастроентеролози – 27-28 март 2021г. София