

LATVIJAS UNIVERSITĀTE  
MEDICĪNAS FAKULTĀTE  
FARMĀCIJAS BAKALaura STUDIJU PROGRAMMA

**CELULĀRĀ FIBRONEKTĪNA KONCENTRĀCIJA  
KUŅĀ VĒŽA PACIENTIEM AR ZINĀMU  
HELICOBACTER PYLORI INFEKCIJU**

BAKALaura DARBS

Autors: Elīna Maslobojeva

Stud. apl. Em10070

Darba vadītājs: pētnieks Guntis Ancāns

RĪGA 2013

## Anotācija

Pasaulē ar kuņģa vēzi ik gadu saslimst ap miljons cilvēku un tas ir ceturtais visbiežāk izplatītais vēzis uz zemeslodes, sekojot aiz plaušu, krūts un kolorektālā vēža, taču mirstības ziņā kuņģa vēzis ieņem 2.vietu pasaulē, tas sastāda 8,6% no visiem pirmreizēji diagnosticētiem ļaundabīgo vēžu gadījumiem. Nopietnākais kuņģa vēža riska faktors ir *Helicobacter pylori* infekcija. Kuņģa vēža pacientiem tiek novērota paaugstināta celulārā fibronektīna koncentrācija, kas iespējams ļautu to izmantot kā vēža marķieri. Pētījums tika veikts, lai noskaidrotu vai *Helicobacter Pylori* infekcija ietekmē celulārā fibronektīna (cFn) koncentrāciju pacientiem ar kuņģa vēzi.

Analizējot Latvijas Onkoloģijas centrā ārstēto kuņģa vēža un labdabīgo gastrointestinālo slimību pacientu datus saistībā ar *Helicobacter pylori* infekciju un celulārā fibronektīna koncentrācijas izmaiņām, izmantojot statistikas metodi SPSS 19.0 (SPSS Inc., IBM corp., USA), ieguvām datus, ka cFN koncentrācija  $> = 2,0773$  mg / L ir saistīta ar kuņģa vēža grupas pacientiem salīdzinājumā ar kontroles grupu.

Rezultātā ieguvām, ka nav statistiski nozīmīgas atšķirības cFN koncentrācijā starp *H. pylori* seropozitīviem un seronegatīviem pacientiem ar kuņģa vēzi, kas noteikts ar vienvirziena Stjudenta t kritēriju ( $P = 0.173$ ).

**Atslēgas vārdi:** kuņģa vēzis, *Helicobacter pylori*, celulārais fibronektīns.

## Abstract

It is almost a million people a year over the world who fall ill with a gastric cancer. Gastric cancer is the fourth most widespread cancer type in the world after lung cancer, breast cancer and colorectal cancer, although it takes second place in the death rate. It forms 8,6% from all first-time diagnosed cases of malignant cancers. The most serious factor of the risk of gastric cancer is *Helicobacter pylori* infection. It has been observed that patients, who suffer from gastric cancer, have increased concentration of cellular fibronectin, that allows to use it as a marker of cancer. This research paper has been done so to find out whether *Helicobacter Pylori* infection affects the concentration of cellular fibronectin (cFn) in the patients of gastric cancer.

Analyzing patients, who has been cured in the Latvian Oology Centre from gastric cancer and non-malignant gastrointestinal diseases, files relating to *Helicobacter pylori* infection and changes of cellular fibronectin concentration, and also using statistical method SPSS 19.0 (SPSS Inc., IBM corp., USA), it has been found out that cFn concentration  $\geq 2,0773$  mg/L is related to the group of gastric cancer patients in comparison with the control group.

In the result of the research paper it has been clarified that there is no statistically important difference in the cFn concentration between *H. pylori* seropositive and seronegative patients of gastric cancer. It has been found out using Stjuden t test ( $P = 0.173$ ).

**Keywords:** gastric cancer, *Helicobacter pylori*, cellular fibronectin

## Saturs

Ievads .....	6
1. Literatūras apskats .....	6
1.1. Kuņģa vēzis. ....	8
1.1.2. Adenokarcinomas formas u.c. kuņģa vēža tipi.....	8
1.1.3. Kuņģa vēža metastāzes .....	9
1.1.4. TNM klasifikācija .....	10
1.1.5. Kuņģa vēža riska faktori.....	12
1.1.6. Kuņģa vēža izplatība pasaulē .....	13
1.1.7. Kuņģa vēža epidemioloģija pasaulē .....	14
1.1.8. Kuņģa vēža epidemioloģija Latvijā .....	15
1.1.9. Kuņģa vēža diagnostika.....	15
1.2. Fibronektīns .....	18
1.2.1. Celulārā fibronektīna uzbūve un funkcijas .....	18
1.2.2. Celulārais fibronektīns kā vēža marķieris .....	21
1.2.3. Celulārā fibronektīna receptors – integrīns .....	23
1.3. Helicobacter Pylori .....	24
1.3.1. Helicobacter pylori kuņģa vēža patoģenēzē .....	24
1.3.2. Helicobacter pylori patofizioloģija .....	25
1.3.3. Helicobacter pylori izplatība pasaulē .....	26
1.3.4. Helicobacter pylori izplatība Latvijā .....	27
1.3.5. Helicobacter pylori izskaušana .....	27

1.3.6. Helicobacter pylori diagnosticēšana .....	28
1.3.7. ELISA .....	29
1.3.8. ELISA Helicobacter pylori diagnosticēšanā .....	31
2. Metodes un materiāli .....	32
2.1. Pacienti .....	32
2.2. Laboratorijas metodes .....	32
2.2.3. Statistiskā analīze .....	33
3. Rezultāti .....	34
4. Diskusija .....	37
Secinājumi .....	38
Pateicības .....	38
Izmantotā literatūra .....	39
Dokumentārā lapa .....	44

## Ievads

Kuņģa vēzis ir viena no izplatītākajām onkoloģiskajām slimībām gan Latvijā, gan visā pasaulē [1.]. Neskatoties uz lielu saslimstības un mirstības kritumu vairāku gadu desmitu laikā [2.], pasaulē ar kuņģa vēzi ik gadu saslimst ap miljons cilvēku [3.], un tas ir ceturtais visbiežāk izplatītais vēzis uz zemeslodes aiz plaušu, krūts un kolorektālā vēža [4.]. Mirstības ziņā kuņģa vēzis ieņem 2. vietu pasaulē, tas sastāda 8.6% no visiem pirmreizēji diagnosticētiem ļaundabīgo vēžu gadījumiem [5.]. Līdz 20. gadsimta 80. gadiem kuņģa vēzis ieņēma pirmo vietu kā nāves cēlonis no ļaundabīgām un vispārējām saslimšanām [2.]. Pēdējos gadu desmitos saslimstība un mirstība no kuņģa vēža samazinās, it īpaši attīstītajās valstīs. Šāds iznākums lielā mērā ir uztura izmaiņu dēļ šajās valstīs, un mazākā mērā – laicīgas slimības diagnosticēšanas un uzlabotu ārstēšanas metožu dēļ. Liels sasniegums kuņģa vēža diagnosticēšanā ir saistīts ar fibroptiskā endoskopa izstrādi un turpmāko ieviešanu klīniskajā praksē pagājušā gadsimta 60.–70. gados. Zināms progress ir panākts pētot karcinogēneses jautājumus, pirmsvēža slimības un kuņģa gļotādas stāvokli. Aktīvi tiek pētīta *Helicobacter pylori* loma kuņģa vēža attīstībā. Tomēr, kā jau iepriekš, galvenais šīs slimības ārstēšanas veids ir ķirurģiska iejaukšanās (uzlabotu ārstēšanas iznākumu saista ar plašu limfmezglu izgriešanu vēdera augšdaļā) [2.].

Kuņģa vēzis joprojām ir starp lielākajām veselības aprūpes problēmām daudzās pasaules valstīs. Latvijā saslimstības rādītāji ir daudzkārt sliktāki kā vairumā rietumeiropas un centrāleiropas valstu. Latvijā katru gadu kuņģa vēzis tiek diagnosticēts ap 600 cilvēkiem, savukārt 500 cilvēki šīs slimības dēļ mirst. Biežākais gremošanas sistēmas audzējs gan pasaulē, gan arī Latvijā ir kolorektālais vēzis. Latvijā katru gadu to diagnosticē ap 1100 cilvēkiem, ik gadu tā dēļ mirst ap 700 cilvēku [6.].

### **Darba hipotēze :**

H. Pylori pozitīviem pacientiem ar kuņģa vēzi ir paaugstināta cellulārā fibronetīna (cFn) koncentrācija.

### **Darba mērķis :**

veikt pētījumu Latvijas Onkoloģijas centrā, lai noskaidrotu vai H. Pylori infekcija ietekmē celulārā fibronektīna (cFn) koncentrāciju pacientiem ar kuņģa vēzi.

### **Darba uzdevumi :**

1. Noteikt vai kuņģa vēža pacientiem salīdzinājumā ar kontroles grupu ir paaugstināta cFn koncentrācija

## 2. Vai H. pylori infekcija ietekmē cFn koncentrāciju pacientiem ar kuņģa vēzi

### **Metodes:**

**Statistikās metodes** - Mann Whitney U test, Stjudent t kritērijs.

Darbs sastāv no trim nodaļām ar apakšnodaļām. Pirmajā nodaļā veikts teorētiskās literatūras apskats: pirmajā apakšnodaļā aprakstīti kuņģa vēža tipi, metastāžu veidošanās, klasifikācija, riska faktori, epidemioloģija un diagnostika; otrajā apakšnodaļā aprakstītas fibronektīna funkcijas, uzbūve, iespēja izmantot to kā vēža marķieri un tā saistošais receptors-integrīns; trešajā apakšnodaļā aprakstīta helicobacter patogēnēze, izplatība gan Latvijas, gan pasaules mērogā un iespējamās diagnostikas un izskaušanas metodes. Otrajā nodaļā ir aprakstītas bakalaura darba pētījuma daļas izstrādei izmantotās nodaļas. Trešajā nodaļā tiek aprakstīti pētījuma rezultāti.

## 1.1. Kuņģa vēzis

Kuņģa vēzis ir viena no biežākajām un nopietnākajām onkoloģijas slimībām. Klīniski patoloģiskā aspektā šķir kuņģa vēža (pēc Laurena klasifikācijas) intestinālo un difūzo formu [7.]. Šī klasifikācija ir balstīta uz audzēja histoloģiju, raksturojot divus kuņģa adenokarcinomas veidus, kurām ir atšķirīga patoloģija, epidemioloģija, etioloģija un uzvedība [8.].

Intestinālā forma, ko reizēm sauc par epidēmisko formu, ir labāk diferencēts vēzis, ar tendenci veidot dziedzerus. Tas ir pārsvarā eksofits, un tiek biežāk novērots vecākiem ļaudīm. Šai gadījumā nereti var izsekot audzēja attīstībai jau no hroniskas, iespējams, vēzdraudes slimības stadijas. Šī vēža forma ir labāk kontrolējama.

Difūzā forma ir infiltratīvi augošs vēzis, kas ir mazāk diferencēts, uzrāda zemu šūnu kohēziju, un tam ir tendence aizstāt kuņģa gļotādu ar gredzenveida šūnām. To biežāk novēro jauniem cilvēkiem. Difūzās formas gadījumā parasti nevar izsekot iepriekšējās kuņģa slimības [7.]. Aptuveni 16% gadījumu būs neklasificēti vai jaukta tipa [9.]. Histoloģiski visbiežākā vēža forma ir adenokarcinoma, kas veidojas 90% gadījumos [7.].

Pirmsvēža procesa dinamika ir ļoti precīzi definēta, ietverot pāreju no normālas gļotādas uz hronisku virspusēju gastrītu, atrofisko gastrītu un zarnu metaplāziju, kas pēc tam noved pie displāzijas un kuņģa adenokarcinomas. Ir pierādīts, ka kuņģa vēzis attīstās kā poliklonāls bojājums, iespējams, sakarā ar genoma nestabilitāti, p53 delēciju un telomerāzes aktivitāti [10.].

### 1.1.2. Adenokarcinomas formas u.c. kuņģa vēža tipi

Biežāk sastopamās adenokarcinomas formas:

1. Tubulārā adenokarcinoma, kas ir visizplatītākā histoloģiskā tipa agrīnā kuņģa karcinoma. Raksturīgi izteikti paplašināti un sazaroti dziedzeri, audzēju šūnas var būt kubiskas, cilindriskas un plakanas. Citoloģiskās displāzijas pakāpe audzēja šūnās var būt gan augsta, gan zema. Tubulārām adenokarcinomām izšķir trīs diferenciacijas pakāpes: augsti diferencēta – adenokarcinomu veido dziedzeri; vidēji diferencēta – atrodas pa vidu starp augsti un zemu diferencētu adenokarcinomu; zemi diferencēta adenokarcinoma – veido neregulāras formas dziedzeri vai šūnu kompleksi, kas neveido dziedzerus.

2. Papillāra adenokarcinoma rodas proksimālajā kuņģa daļā un bieži tiek saistīta ar aknu metastāzēm. Tai ir tendence ietekmēt vecākus cilvēkus un ar lielāku ātrumu skart limfmezglus. Histoloģiski tā tiek raksturota ar epitēlija izvirzījumiem jeb gariem izaugumiem.

3. Mucinous adenokarcinoma, kas veido 10% no kuņģa karcinomām. Histoloģiski tai ir raksturīgs augsts ekstracelulārā mucīna (gļotu) daudzums, kas veido vismaz 50% no audzēja tilpuma. Audzēja šūnas var veidot dziedzera struktūru un neregulāras šūnu kopas. Šo adenokarcinomu iedala divos tipos: zemi diferencētajā tipā, kur audzēja šūnas vai tā kompleksi brīvi atrodas gļotās, un augsti diferencētajā tipā, kur audzēju veido dziedzeri, kas izklāti ar cilindrisku mucīnu sekretējošo epitēliju.

4. Gredzenveida šūnu karcinoma - adenokarcinoma, kuras šūnas mikroskopā atgādina gredzenus. Šāda tipa šūnas ir vairāk kā 50% no visām adenokarcinomas šūnām. Šim tipam nav raksturīgas dziedzeru struktūras. Gredzenveida šūnu karcinomas iedala piecos veidos pēc morfoloģiskā izskata. Šī tipa adenokarcinoma vienmēr ir zemi diferencēta un tā ir biežāk sastopama gados jauniem pacientiem un distālajā kuņģa daļā [11.]. Retākas ir citu vēžu formas :

- plakanšūnu;
- adenoskvamozs;
- nediferencēts vēzis;
- kā arī citi ļaundabīgie audzēji:
  - sarkoma;
  - ļaundabīgs karcinoīds;
  - limfoma [7.].

### 1.1.3. Kuņģa vēža metastāzes

Kuņģa vēža izplatība, pirmkārt, aprobežojas ar kuņģa sienu, bet pēc tam notiek limfogēnā (sienas limfmezgli, reģionālie limfmezgli) un hematogēnā izplatība.

Limfogēnās metastāzes veidojas līdz ar tumorozu invāziju attālos limfmezglos ar sekojošu kreisā supraklavikulārā un nabas apvidus limfmezglu iesaistīšanu. Limfmezglu metastāzes izplatīšanās ir svarīgs faktors, nosakot iespējamās ķirurģiskās iejaukšanās platumu un prognozi.

Kuņģa vēzis samērā bieži metastāzē arī hematogēni – pa portālo vēnu aknās (ap 40% attālo metastāžu), mazāk citos orgānos – plaušās (ap 20%), kaulos (ap 10%), reti smadzenēs,

nierēs un virsnierēs. Hematogēno metastāžu intensitāte pozitīvi koralē ar audzēju invāzijas dziļumu kuņģa sienā un vēnu invāzijas plašumu. Hematogēnās metastāzes biežāk ir proksimālā kuņģa vēža gadījumā ar invazīvu augšanas veidu.

Vēderplēves karcinomatoze ir samērā bieža attālo metastāžu forma kuņģa distāliem audzējiem un var būt pat vienīgā metastāžu vieta, īpaši, ja primārais kuņģa audzējs skar kuņģa serozo apvalku, bet ne limfmezglus. Vēderplēves karcinomatoze var radīt:

- zarnu invāziju;
- tievās zarnas obstrukciju;
- ascītu [7].

Kad kuņģa vēzis diagnosticēts agrīnās stadijās, piecu gadu dzīvildze pārsniedz 90%, vēlīnās stadijās piecu gadu dzīvildze ir zem 50%. [12.].

Metastāzes rodas 80–90% pacientiem ar kuņģa vēzi, sešu mēnešu izdzīvošana sastāda 65% pie agrīnas slimības diagnosticēšanas un mazāk nekā 15% – pēdējās stadijas. Vienā gadījumā no 50 pacientiem ar sūdzībām par dispepsiju tiek atklāts kuņģa vēzis [13.].

#### 1.1.4. TNM klasifikācija

TNM klasifikācijas pirmsākumi ir meklējami 1943. gadā Francijā, kur līdz 1952. gadam Pierre Denoix izstrādāja vienotu sistēmu, lai klasificētu ļaundabīgos audzējus [14.]. Audzējus var klasificēt pēc dažādiem kritērijiem: pēc to anatomiskas lokalizācijas, pēc klīniski noteiktas un histopatoloģiski apstiprinātas neoplastiskā procesa izplatības, pēc audzēja histoloģiskā veida un diferenciācijas pakāpes [15.].

TNM klasifikācija ļaundabīgos audzējus grupē pēc trim kritērijiem: T – primārais audzējs, tā izplatība un dziļums; N – reģionālo limfmezglu (perigastrālie limfmezgli, kas atrodas ap mazo un lielo kuņģa loku) stāvoklis un limfogēno metastāžu esamība vai neesamība; M – distālo metastāžu esamība vai neesamība [7].

Ir gadījumi, kad orgānā vienlaikus ir vairākas audzēja lokalizācijas, tādā gadījumā audzēju klasificē ar augstāko T kategoriju, un audzēju skaitu norāda iekavās.

Audzējs (T) šai gadījumā tiek vērtēts pēc penetrācijas dziļuma:

- T – primārais audzējs;
- T<sub>x</sub> – nav iespējams vērtēt primāro audzēju;

- $T_0$  – nav pierādījumu par primāru audzēju;
- $T_{is}$  – *Carcinoma in situ*: intraepiteliāls audzējs gļotādā, bez *lamina propria* invāzijas;
- $T_1$  – audzējs ieaug *lamina propria* vai zemgļotādā (submukozā);
- $T_2$  – audzējs ieaug muskuļslānī vai subserozē;
- $T_3$  – audzējs ieaug serozajā apvalkā bez blakus struktūru invāzijas;
- $T_4$  – audzējs ieaug blakus esošajās struktūrās.

Reģionālo limfmezglu(N) bojājumu vērtē šādi:

- $N_x$  – reģionālie limfmezgli nav novērtējami;
- $N_0$  – reģionālo limfmezglu metastāžu nav;
- $N_1$  – metastāzes 1 – 6 reģionālajos limfmezglos;
- $N_2$  – metastāzes 7 - 15 reģionālajos limfmezglos;
- $N_3$  – metastāzes vairāk nekā 16 reģionālajos limfmezglos.

Attālās metastāzes (M) vērtē šādi:

- $M_x$  – distālo metastāžu esamība nav novērtējama;
- $M_0$  – distālo metastāžu nav;
- $M_1$  – distālās metastāzes.

Saskaņā ar minētiem simboliem primārā kuņģa vēža gadījumus grupē stadijās:

- 0 stadija –  $T_{is} N_0 M_0$ ;
- I stadija:
  - $T_{1,2} N_0 M_0$ ;
  - $T_1 N_1 M_0$ ;
- II stadija:
  - $T_1 N_2 M_0$ ;
  - $T_2 N_1 M_0$ ;
  - $T_3 N_0 M_0$ ;
- III stadija:
  - $T_2 N_2 M_0$ ;

- T<sub>3</sub>N<sub>1,2</sub>M<sub>0</sub>;
- T<sub>4</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>;
- IV stadija:
  - T<sub>4</sub>N<sub>1-3</sub>M<sub>0</sub>;
  - T<sub>1-3</sub>N<sub>3</sub>M<sub>0</sub>;
  - T, jebkurš N, jebkurš M.

Iedalījums stadijās dod iespēju prognozēt turpmākās ārstēšanas gaitu, kā arī iespējamo iznākumu, kaut vai piecu gadu dzīvildzes veidā. Starp dažādām vēža formām kuņģa vēzim ir pietā sliktākā piecu gadu dzīvildze aiz aizkuņģa dziedzera, aknu, barības vada un plaušu vēža. Protams, to lielā mērā ietekmē procesa izplatība un stadija. Zemāk tabulā attēlota procentuāli piecu gadu dzīvildze kuņģa vēža slimniekiem atkarībā no stadijas (sk. 1.1.5.1. tab.) [7].

I stadija	74,2%
II stadija	48,3%
III stadija	14,2%
IV stadija	2,9%
Bez stadijas	12,2%
<b>Kopā</b>	16,9%

1.1.5.1. tab. Piecu gadu dzīvildze kuņģa vēža slimniekiem, kas saslimuši 2001. gadā Latvijā [7].

### 1.1.5. Kuņģa vēža riska faktori

Riska faktori ir jebkas, kas palielina slimības attīstības iespējas. Dažus riska faktoros ir iespējams mazināt, piemēram, smēķēšanu, savukārt citus, piemēram, personas vecumu vai ģimenes anamnēzi izmainīt nevar. Zinātnieki ir atklājuši vairākus kuņģa vēža riska faktoros:

- Hroniskas kuņģa slimības:
  - Kuņģa polipi, kuriem ir augsts adenomatozo polipu pārveidošanās risks. Nelielu polipu, ja tie ir mazāki par 20 mm, malignizācijas risks ir neliels, bet pieaug, ja to diametrs pārsniedz 20 mm.
  - Operēts kuņģis – pēc rezekcijas sakarā ar labdabīgu procesu kuņģī pastāv paaugstināts risks saslimt ar kuņģa stumbra vēzi.
  - Peptisko čūlu pārveidošanās par kuņģa vēzi ir neliela.

- *Helicobacter pylori* infekcija kuņģa gļotādā. To uzskata par riska faktoru gan gastrīta, gan kuņģa čūlas un vēža gadījumā. *Helicobacter pylori* ir galvenais hroniskā gastrīta cēlonis. Kuņģa gļotādas metaplāzija reti vērojama bez *Helicobacter pylori* klātienēs.
- Diēta. Novērojumi liecina, ka paaugstinātam nitrītu/nitrātu daudzumam pārtikas produktos ir ļoti liela nozīme, jo kuņģī dažādu faktoru ietekmē notiek N – nitrozo savienojumu veidošanās, iespējams, ka šajā procesā piedalās arī *Helicobacter pylori*. N – nitrozamīns ir pierādīts kā kancerogēns savienojums. Arī sālītiem produktiem ir nelabvēlīga ietekme uz kuņģa gļotādu. Stipri sālīti, kūpināti, marinēti produkti (dārzeņi, sēnes) ir nelabvēlīgs faktors, īpaši slimam kuņģim.
- Ģenētiskie faktori. Kuņģa vēža saistība ar ģenētiskiem faktoriem nav tik cieši pierādīta kā dažu citu audzēju, piemēram, krūts vēža gadījumos, taču DNS pārmaiņas kuņģa gļotādas šūnās dažādu faktoru ietekmē ir nozīmīga arī šajā gadījumā. To apstiprina kaut vai tā sauktie vēža ģimeņu pētījumi un netieši arī A (II) asins grupas nozīmība kuņģa vēža gadījumā, piemēram, difūzā kuņģa vēža slimniekiem A (II) asins grupa sastopama gandrīz divas reizes biežāk nekā veselo cilvēku grupā. Difūzā, infiltratīvā kuņģa vēža gadījumā svarīgāka ir saistība ar ģenētiskiem faktoriem, intestinālā vēža gadījumā svarīgāki ir dažādi diētas, aroda, sadzīves un vēzdraudes slimības faktori [7.].
- Smēķēšana ir saistīta ar kuņģa vēzi. Risks saslimt palielinās attiecīgi smēķēšanas biežumam un izsmēķēto cigarešu daudzumam (>20 cigaretēm dienā). Arī alkohola lietošana (>5 reizēm 2 nedēļās) palielina risku. Smēķēšanas un alkohola vienlaicīga lietošana palielina ne kardiijas kuņģa vēža attīstības risku 5 reizes nekā nesmēķētājiem. No visiem kuņģa vēža gadījumiem 18% var saistīt ar smēķēšanu un alkohola lietošanu [16.].

### 1.1.6. Kuņģa vēža izplatība pasaulē

Kuņģa vēzis biežāk ir sastopams Japānā, Ķīnā, Dienvidu un Austrumeiropā, kā arī Dienvidamerikā un Centrālamerikā. Šī slimība mazāk izplatīta ir ASV, ziemeļu un rietumu Āfrikā, Dienvidcentrālā Āzijā un Ziemeļamerikā. Katru gadu 989 tūkstošiem pacientu diagnosticē kuņģa vēzi un tas ir par iemeslu aptuveni 800 000 nāves gadījumiem visā pasaulē

[17.]. Prognozes parasti ir diezgan sliktas, 5 gadu izdzīvošana sastāda 30% lielākajā daļā valstu [18.]. Tā ir slimība, kas galvenokārt skar vecāka gadagājuma cilvēkus, kaut gan kuņģa vēzis ir novērots arī bērniem. Gandrīz 2 no 3 cilvēkiem, kuriem ir kuņģa vēzis, ir 65 gadus veci vai vecāki. Risks saslimt ar kuņģa vēzi dzīves laikā ir aptuveni 1 no 116. Daži ārsti uzskata, ka svarīgs faktors ir antibiotiku lietošana, lai ārstētu infekciju. Šīs zāles var nogalināt *Helicobacter Pylori* baktērijas, kas, domājams, ir galvenais šīs slimības iemesls [17.].

### 1.1.7. Kuņģa vēža epidemioloģija pasaulē

Dažādos pasaules reģionos novērotas atšķirības saslimstībā ar kuņģa vēzi un mirstībā no tā. Augstas saslimstības apgabali (vīr. > 20 uz 100 000) ir Austrumāzija (Ķīnā, Japāna, Koreja), Centrālaustumeiropa (Baltkrievija, Baltijas valstis, Ukraina, Krievija), daļa Centrālās un Dienvidamerikas (Čīle, Ekvadora). Zemas saslimstības apgabali (vīr. < 10 uz 100 000) ir Dienvidaustrumāzija (Bangladeša, Taizeme), Ziemeļāfrika, Austrumāfrika, Ziemeļamerika [1.].

Kuņģa vēža izplatība pasaulē ir ļoti nevienmērīga, pastāv plaši reģioni ar augstu saslimstību – no 30 līdz 100 uz 100000 iedzīvotājiem, un tikpat plašas teritorijas ar zemu saslimstību. Globālā mērogā saslimstība ir 14/100000 personām gadā. Visaugstākā saslimstība pasaulē tiek novērota japāņu vīriešiem, viszemākā – ASV starp baltajām sievietēm. Lielākajā daļā valstu vīrieši slimo ar kuņģa vēzi pusotru līdz divas reizes biežāk nekā sievietes [2.].

Lielākajā daļā pasaules valstu mirstības līmenis tuvojās saslimstības līmenim. Šajā gadījumā mirstība ir lielā mērā atkarīga no agrīnās diagnostikas un veiksmīgas ārstēšanas. Tieši šo iemeslu dēļ mirstības rādītāji no kuņģa vēža Japānā ir divas reizes mazāki nekā saslimstība, norādot uz pretvēža cīņas efektivitāti valsts mērogā. Vidēji augstākā dzīvildze kuņģa vēža slimniekiem tiek atzīmēta Japānā – 53%, bet citās valstīs tā nepārsniedz 15–20% [19].

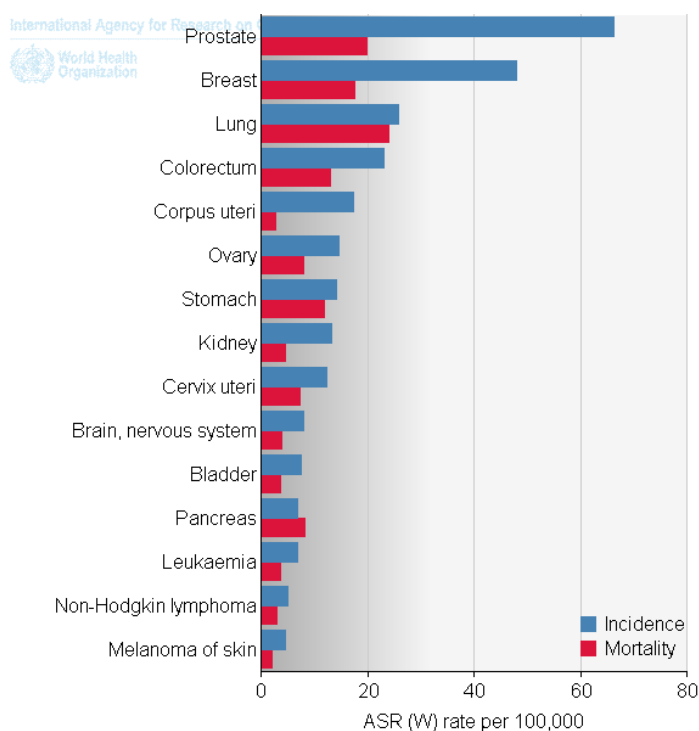
Japānā un Dienvidkorejā (abas augsta riska zonas) norit kuņģa vēža skrīnings, ieteiktās metodes ir fotofluorogrāfija (kuņģa rentgenoloģiskā izmeklēšana) un augšējā endoskopija (tikai Korejā). Nesenie zinātniskie pētījumi apstiprina iespēju izmantot neinvazīvas skrīninga metodes (pepsinogēnu noteikšanu asinīs), taču neviena no valstīm tās nav iekļāvusi skrīninga programmā.

Ir skaidrs, ka populācijas kuņģa vēža saslimstības rādītājus ietekmē uztura režīms un raksturs. Lietojot uzturā pietiekamu daudzumu augu pārtikas produktu, dārzeņu, dzīvnieku un

augu olbaltumvielas, kuņģa vēža risks samazinās. Atbilstošs piemērs ir ASV, kur pēdējo 70 gadu laikā tika propagandēts veselīgs uzturs, vairākkārt pazeminājās kuņģa vēža sastopamība iedzīvotāju vidū.

### 1.1.8. Kuņģa vēža epidemioloģija Latvijā.

Latvijā kuņģa vēzis ieņem 4.–5. vietu onkoloģisko slimību struktūrā ar vidēji 700 jauniem saslimšanas un vairāk nekā 550 nāves gadījumiem katru gadu. Piemēram, 2006. gada beigās Latvijā uzskaitē bija 2637 kuņģa vēža slimnieki. Gandrīz vienāda ir sieviešu un vīriešu saslimstība. Vīriešiem saslimstības maksimums ir 65–69 gadu vecumā, bet sievietēm – 70–74 gadu vecumā. Līdz 30 gadu vecumam kuņģa vēzis ir reta slimība [7].



1.1.8.1. Att. Aprēķinātie vecuma standartizēti incidences un mirstības rādītāji: abiem dzimumiem [20].

### 1.1.9. Kuņģa vēža diagnostika

Lai gan kuņģa karcinoma biežums samazinās, tā joprojām ir fatāla slimība. Mūsdienās rezultāti nav labāki kā pirms 30 gadiem, jo vēzis joprojām ir diagnosticēts pārāk vēlu. Lai uzlabotu rezultātus kuņģa vēža ārstēšanai, ir jāveic fiberoptiskā gastrokopija cilvēkiem virs 40 gadu vecuma, kuriem ir sūdzības par kuņģi, biežāk jāveic kuņģa gļotādas biopsija. Tikai tādā veidā, pietiekami agri diagnosticējot kuņģa vēzi, var palielināt izdzīvošanas līmeni [21].

Agrīnu specifisku fizikālo simptomu, kas liecinātu par kuņģa vēzi, nav. Fizikālie simptomi bieži vien ir vēlīna parādība. Kuņģa vēža simptomi ir:

- slikta ēstgriba;
- neizskaidrojams svara zudums;
- sāpes kuņģī vai vēderā;
- ātra sāta sajūtu, tieši zem krūšu kaula pēc ēšanas;
- grēmas vai gremošanas traucējumi;
- vemšana, ar vai bez asinīm;
- pietūkumu vai šķidruma uzkrāšanās vēderā.

Protams, daudzus šos simptomus var izraisīt arī citas problēmas, kas nav saistītas ar vēzi. Šādas sūdzības var būt pietiekami daudzveidīgas, un ļoti bieži tās nopietni neuztver ne slimnieks, ne ārsts. Ilgāku sūdzību gadījumos būtu jāmeklē to cēlonis.

Kuņģa vēža diagnostikas testi:

- Augšējā endoskopija: šajā testā apgaismota caurule, kas aprīkota ar video kameru, tiek caur rīkli ievietota barības vadā, dodot ārstam iespēju redzēt barības vadu, kuņģi, un daļu no tievās zarnas, ir iespējams izņemt ar caurules palīdzību audu paraugu (biopsija). Šie paraugi tiek nosūtīti uz laboratoriju.
- Biopsija ir vienīgais visdrošākais veids, lai noskaidrotu vēzi, kurā tiek ņemti audu paraugi, kas laboratorijā tiek izpētīti zem mikroskopa. Kuņģa vēzis var būt dziļi kuņģa sienā, kas apgrūtina biopsijas paraugu ņemšanu ar standarta endoskopiju. Biopsijas tiek ņemtas arī no vietām, kur vēzis varētu būt izplatījies, piemēram, tuvējos limfmezglos vai citās ķermeņa daļās.
- Endoskopiskās ultraskaņas (EUS): tiek izmantoti skaņu viļņi, lai iegūtu iekšējo orgānu bildes. Lielākā daļa cilvēku zina par ultraskaņu, jo tā tiek izmantota, lai iegūtu priekšstatu par bērnu pirms dzimšanas. EUS ir ļoti noderīga, jo var redzēt, cik tālu kuņģa vēzis ir izplatījies kuņģa sienā.

Laboratoriskie izmeklējumi, kas iespējami pirmajā posmā [parastā asinsaina, piramidona (Grēgersena) reakcija], var dot tikai netiešu papildinformāciju, piemēram, dati par anēmiju, slēptām asinīm izkārnījumos. Vērtīga ir iespēja konstatēt *Helicobacter pylori* infekciju kuņģa gļotādā, taču tieši kuņģa vēža diagnostikā šī analīze nav būtiskākā. Cits jautājums – noskaidrot šās infekcijas invāziju hroniskas kuņģa slimības gadījumā.

Pastāvot aizdomām par kuņģa patoloģiju, nākamais solis varētu būt FGS vai vienkāršāk īstenojamā kuņģa rentgenizmeklēšana. Japānā samērā populāra ir FGS kā kuņģa vēža sijājoša diagnostika.

#### **FGS varētu būt vairākas priekšrocības:**

- patlaban tā ir pieejama visos Latvijas rajonos;
- FGS laikā iegūst visai precīzu un informatīvu kuņģa gļotādas vizuālo ainu;
- iespējama kuņģa gļotādas veidojamu aizdomīgo apvidu biopsija (vai nokasījumi ar speciālo birstīti citoloģiskai izmeklēšanai), precizējot patoloģijas veidu;
- Ja ir grūtības ar FGS veikšanu, pirmajā posmā vajadzētu veikt kuņģa rentgenoskopiju (ar parastu vai dubultu kontrastēšanu), kas var dot pilnīgi pietiekamu kuņģa patoloģijas rentgendiagnozi, lai slimnieku nosūtītu izmeklēšanai un ārstēšanai specializētā stacionārā. Var būt gadījumi, piemēram, kuņģa sienas infiltratīva procesa gadījumā, kad FGS vizuālā aina un arī biopsija rezultātu nedod, bet rentgenoloģiski var iegūt pierādījumus par kuņģa sienas rigiditāti, kuņģa motilitāti, peristaltiku, kontrastvielas evakuācijas gaitu utt.

Visu minēto informāciju apkopojot, pietiek, lai slimniekam, nezaudējot laiku (varbūt 2–3 nedēļas vai pāris mēnešu), ordinētu turpmāko ārstēšanu .

***Klīnisks piemērs.*** 54 gadu veca slimniece 2006. gada decembrī vērsās pie ģimenes ārsta ar sūdzībām par neskaidrām sāpēm vēdera augšdaļā. Veikta vēdera dobuma ultrasonoskopija, kurā patoloģiju nekonstatē. Atkārtoti vērsusies pie ārsta 2007. gada jūnija beigās, 3 jūlijā veikta FGS, konstatēts kuņģa vēzis, 9. augusta LOC stacionārā konstatēta procesa diseminācija. No pirmās vizītes (ar sūdzībām) pie ārsta līdz diagnostikai pagājuši septiņi mēneši. Slimniecei 54 gadi. [7.]

## 1.2. Fibronektīns

Fibronektīns ir adhezīvs glikoproteīns [22.], kuram ir mainīga primārā struktūra, šūnu tipa specifiskā FN prekursora mRNS splaisinga dēļ, atšķirīgs splaisings trijos vienas mRNS reģionos [23.].

Fibronektīns, kas šķīstošā veidā ir atrodams plazmā un daudzos citos organisma šķidrums, tiek saukts par plazmas fibronektīnu, un nešķīstošā formā tas sastopams galvenokārt kā ekstracelulārā matricas un šūnu membrānu komponents [23.]. Tas funkcionē kā mediātors starpšūnu sakaros un šūnu-ekstracelulārā matricas kompleksos [22.].

Celulārais fibronektīns atšķiras no plazmas fibronektīna, jo tā molekulā ir ekstra domēna A vai B sekvenca, tātad satur EDA vai EDB domēnu. Šķīstošo jeb plazmas fibronektīnu sintezē hepatocīti [24.], bet celulārais jeb nešķīstošais fibronektīns tiek producēts lokāli, ko izdala galvenokārt fibroblasti vai endotēlija šūnas, glijas un epitēlija šūnas, kā šķīstošās olbaltumvielas dimēru un tad pārvērš nešķīstošā matricas kompleksā [19.]. Tomēr plazma satur arī nelielu CFN daudzumu [13.].

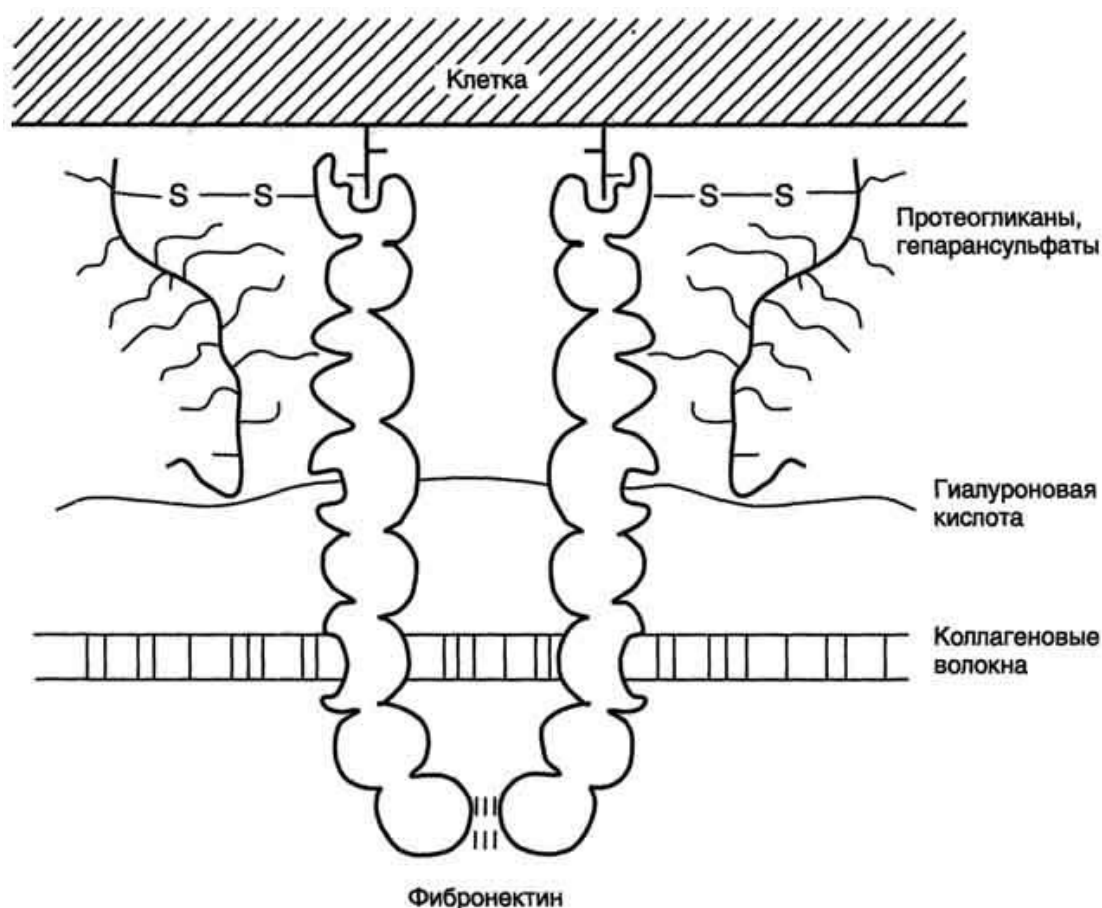
### 1.2.1. Celulārā fibronektīna uzbūve un funkcijas

Fibronektīnam ir nozīme dažādos bioloģiskajos procesos, piemēram, audu organizēšanā, šūnu adhēzijā (piesaistīšanās) un diferenciācijā, kas ir nozīmīgi, piemēram, brūču dzīšanas un embriju attīstības procesos [25.], kā arī piedalās audzēja invāzijā un metastāžu veidošanās procesā [13.].

Izmainīta fibronektīna (ekspresija) izteiksme, degradācija un organizācija ir saistīta ar vairākām patoloģijām, tostarp vēzi un fibrozi [26.].

Fibronektīns piedalās ne tikai šūnu piestiprināšanā ārpusšūnas matricam, bet arī stipri ietekmē šūnu diferenciāciju, reģenerāciju un migrāciju embriogēneses sākuma etapos, norādot, ka tas piedalās arī šūnas signālsistēmā [19.].

Fibronektīns ir viens no galvenajiem ārpusšūnas matricas proteīniem un tam ir augsta molekulārā masa  $\approx 440$  kDa, tas saistās ar membrānu saistīta proteīna – integrīna molekulas receptoru [19.] un ir veidots no divām identiskām polipeptīdu ķēdēm, kuras savieno disulfīdu tilts to C-galos (1.2.1.1 attēls) [19.].

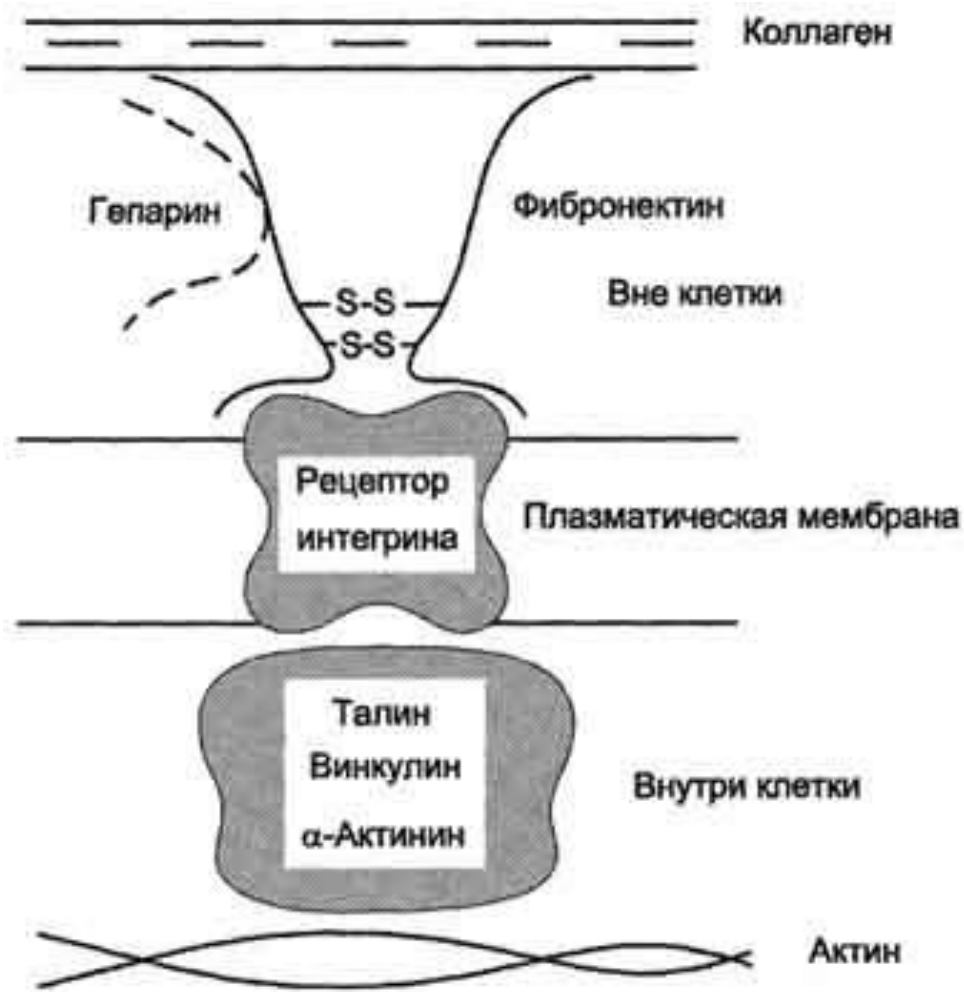


1.2.1.1. att. Fibronektīna uzbūve [19.]

Fibronektīna polipeptīdu ķēde, kuru molekulārā masa ir 230–250 kDa [27.] satur 7–8 domēnus, uz katra no tiem ir specifiski saistīšanās centri, lai saistītu dažādas vielas [19.].

Fibronektīns var saistīt kolagēnu, proteoglikānu, hialuronskābi, plazmas membrānas ogļhidrātus, heparīnu, fermentu transglutamināzi. Savas struktūras dēļ fibronektīns var veikt būtisku lomu starpšūnu vielas organizācijā un veicināt šūnu adhēziju [19.].

Abas fibronektīna formas ir iesaistītas dažādos procesos: veicina epitēlija un mezenhīmu šūnu izplatīšanos un adhēziju, stimulē embriju un audzēja šūnu proliferāciju un migrāciju, kontrolē diferenciāciju un uztur šūnas skeletu, aktīvi iesaistās iekaisuma un reparatīvajos procesos. Tas ir saistīts ar to, ka katra fibronektīna apakšvienība satur Arg-Gly-Asp secību, ar kuru palīdzību tas var saistīties ar šūnu receptoriem – integrīniem. Šie receptori netieši mijiedarbojas ar aktīva mikrofilamentiem, kas atrodas citosolā. Šajā procesā piedalās tā sauktie piesaistes proteīni: talins, vinkulins,  $\alpha$ -aktinīns (1.2.1.2. att.) [19.].

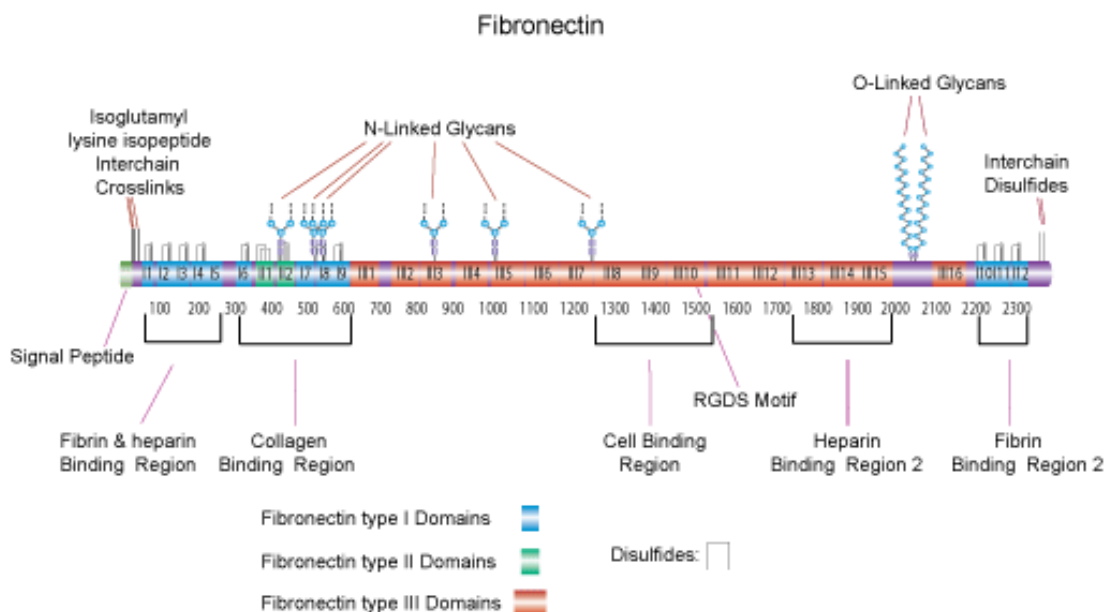


1.2.1.2. att. Fibronektīna un integrīna mijiedarbības shēma [19.].

Ar šādu proteīnu mijiedarbību informācija var tikt pārnesta no starpsūnas matricas šūnā, un pretējā virzienā – no šūnas ārpusē, tādā veidā ietekmējot šūnā notiekošos procesus. Ir zināms, ka fibronektīns ir iesaistīts šūnu migrāciju, kuras var tikt pievienota tā RGD rajonos, un tādējādi fibronektīns it kā palīdz tām pārvietoties starpsūnas matricā [19.].

Vairākas fibronektīna formas veidojas vienas RNS molekulas alternatīvā splaisinga rezultātā. Viena no formām – plazmas fibronektīns – šķīstošs, cirkulē asinīs. Visas citas formas savācas fibronektīna pavedienos uz šūnas virsmas, kas tiek atlikti ārpusšūnas matricā. Cilvēkam veidojas aptuveni 20 dažāda veida fibronektīnu mRNS, katrs no tiem kodē nedaudz atšķirīgas apakšvienības, kuru sastāvā ir domēni, kas atbildīgi par saistīšanos ar dažādām ārpusšūnas matricas makromolekulām. Dažādi fibronektīna domēni ar dažādu afinitāti saista kolagēnu, fibrīnu, heparīnu (1.2.1.3. att. ). Nozīmīgākais domēns Arg-Gly-Aps (RGD) saistās ar integrīnu un mediē šūnu piesaistīšanos jeb adhēziju. Fibronektīns ir iesaistīts plašās mijiedarbībās, šūnu migrācijā, citoskeleta uzturēšanā, tirozīna fosforilācijā un metastāžu

veidošanās procesā [22.].



### 1.2.1.3. att. Makromolekulu saistīšanās reģioni [22.].

Šūnu un makromolekulu mijiedarbība ar fibronektīnu sekmē daudzas fizioloģiskas funkcijas, kā, piemēram, šūnu kustību, diferenciāciju, embriogēzi. Daudzas no šīm mijiedarbībām ar citiem savienojumiem tiek sekmētas ar molekulu piesaistes vietām, kuras atbilst noteiktiem fibronektīna strukturālajiem domēniem. Pie tā piesaistās tādi ligandi, kā, piemēram, heparīns, fibrinogēns, kolagēns, dažādi integrīni [22.].

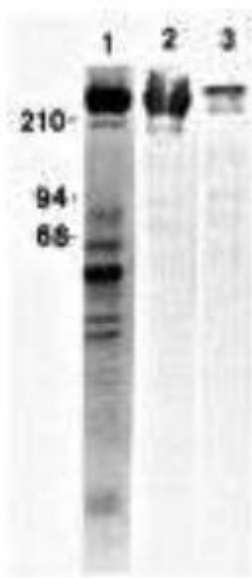
Audzēja invāzija notiek pēc fermentatīvās ārpusšūnu matricas komponentu degradācijas. Proteolīzi izturīgi matricas komponentu domēni var parādīties asins plazmā invāzijas laikā, un tos var izmantot kā ļaundabīgo audzēju marķierus [28.].

## 1.2.2. Celulārais fibronektīns kā vēža marķieris

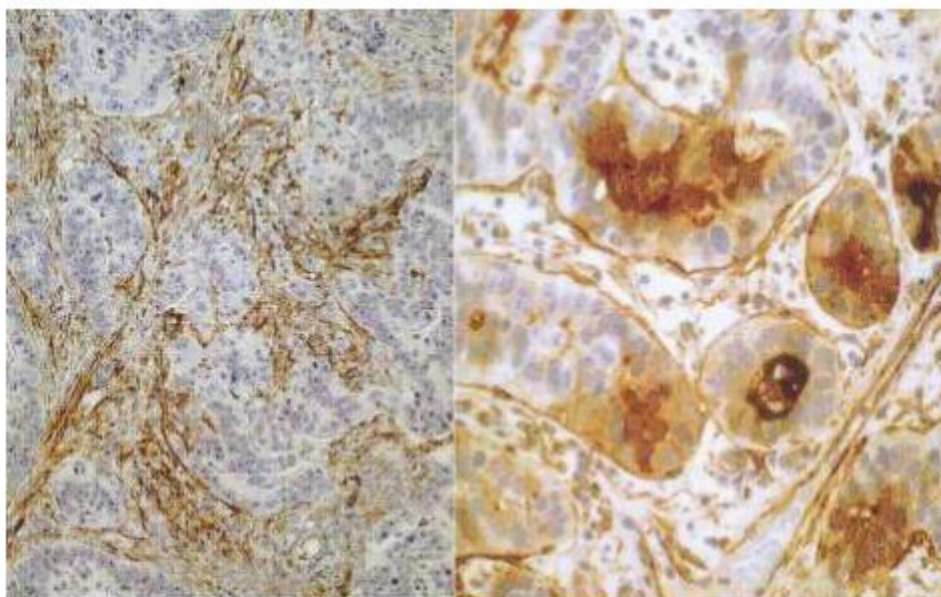
Normāla cilvēka plazmā un audos celulārais fibronektīns rodas tikai nelielā daudzumā, bet tas ir bagātīgs dažādu ļaundabīgu audzēju stromā.

Imunohistoķīmiski, izmantojot monoklonālās antivielas DH1 (MON7092), spēcīga celulārā fibronektīna ekspresija, kas satur EDA reģionu, ir izteikta ļaundabīgos audzējos [29.], un tas, šķiet, korelē ar ļaundabīgo audzēju pakāpi [30.].

Monoklonālās antivielas (Mab MON7092) DH1 atpazīst tikai celulārā fibronektīna formu un ir specifisks EDA domēnam molekulā. Monoklonālās antivielas var izmantot imūnhistoķīmiskajam krāsojumam, imūnblottinga un citās imunoloģiskās analīzēs.



1.2.2.1. att. Plazmas fibronektīna imunoblota analīze (2josla: Mab BF12 MON7097) un EDACFn (3josla: Mab DH1 MON7092)



1.2.2.1. att. Šūnu fibronektīns – ekspresija ārpusšūnas matricā, bazālajā membrānā un luminalajos sekrētos. Resnās zarnas vēzis (pa labi) un intestinālā tipa kuņģa vēzis, krāsots ar monoklonālo antivielu DH1 (MON7092).

Karcinoembrionisks antigēns (CEA) un CA 19-9 ir divi plaši klīniskā praksē izmantojamie audzēju marķieri. Tie abi uzrāda paaugstinātu koncentrāciju serumā pacientiem ar kuņģa-zarnu trakta vēžiem. Haglunda u.c. pētījumos tie pierādīja, ka EDACFn plazmā ir ievērojami palielināts, tajos pašos paraugos, kur bija paaugstināta arī CEA un CA 19-9

koncentrācija. Viņi konstatēja, ka šie rezultāti ļauj izmantot EDACFn kā jaunu audzēja marķieri [13.].

EDACFN enzīma imūnanalīze (EIA) ir jauns audzēja marķieris, pamatviela, mērot ekstra domēnā A šūnu jeb celulārā fibronektīna (CFN) saturošo izoformu koncentrāciju. Šis komponents galvenokārt atrodams ekstracelulārajās matricās. 468 pacientiem ar ļaundabīgām un labdabīgām slimībām tika mērīta CFN koncentrācija plazmā un serumā, tika konstatēts, ka CFN koncentrācija plazmā bija augstāka par 78% nekā serumā. Lielākā CFN frekvences paaugstināšanās tika novērota pacientiem ar aknu, aizkuņģa dziedzera un žultsceļu audzējiem [13.].

Vairākos pētījumos kopējā jeb totālā fibronektīna koncentrācija plazmā un citos ķermeņa šķidrumos jeb fluīdos tiek vērtēta kā vēža vai citu slimību marķieris. Pavisam nesen specifiskās antivielas deva iespēju pētīt šūnu jeb celulārā fibronektīna formu saturošu EDA sekvenci (EDACFN). Ir pierādīts, ka EDACFN atrodas membrānās un pieaugušo audos un stipri ekspresējas visu veidu karcinomas. [13.].

### 1.2.3. Celulārā fibronektīna receptors – integrīns

Integrīns ir transmembrāls heterodimērisks proteīns, kas nodrošina daudzus signāla ceļus. Pēdējos gados, integrīns ir piesaistījis palielinātu interesi kā potenciāls audzēju terapeitisks mērķis. Tas nodrošina šūnu adhēziju molekulām, un ir ekstracelulārā matricas receptors, kas regulē intracelulāro signalizāciju un šūnu atbildi, tostarp migrāciju, proliferāciju un diferenciaciju.

Integrīns ir stipri ekspresējies vēža šūnās, ietekmējot proliferāciju, izdzīvošanu, rezistenci pret terapiju un audzēja atkārtanos. Turklāt svarīga loma audzēja angiogēnēzē ir  $\alpha 5\beta 1$  integrīnam, ko sauc arī par fibronektīna receptoru, un  $\alpha v\beta 3/\beta 5$ .

Integrīna  $\alpha 5\beta 1$  loma angiogēnēzē un attīstībā ir bijusi atzīta jau vairāk nekā pirms 20 gadiem. Kā norādīts iepriekš,  $\alpha 5\beta 1$  integrīns ir iesaistīts dažādos audzēja progresēšanas aspektos un, šķiet, ir jo īpaši ekspresēts visagresīvākajos audzējos.

Tā līdzdalība audzēja angiogēnēzē, audzēja šūnu migrācijā un adhēzijā, kā arī ietekme uz terapijas rezistenci ļauj to uzskatīt par piemērotu terapijas mērķi nākotnē. Līdz šim centieni nav vērsti uz  $\alpha 5\beta 1$  integrīna receptoru antagonistiem, bet apkopotie dati liecina, ka tiem būs arvien lielāka loma klīniskā praksē [32.].

### 1.3. Helicobacter Pylori

*Helicobacter pylori*, agrāk saukta par *Campylobacter pyloridis* [33], ir spirālveida formas gram-negatīva baktērija [34.], ar 7 vienā galā novietotām viciņām – flagellām, kas nodrošina tās kustīgumu [35.]. Tā ir aptuveni 3 mikrometrus gara, ar diametru apmēram 0,5 mikrometri. Tā ir mikroaerofīla, tas nozīmē, ka tai ir nepieciešams skābeklis, bet zemākās koncentrācijās, nekā tas ir atrodams atmosfērā [36.]. 1982. gadā to identificēja Barry Marshall un Robin Warren, kuri konstatēja, ka pacientiem ar hronisku gastrītu un kuņģa čūlu ir *H. pylori* infekcija, šīs slimības agrāk nebija uzskatāmas kā baktēriju cēloņi. Tā ir saistīta arī ar divpadsmitpirkstu zarnu čūlas un kuņģa vēža attīstību. Tomēr vairāk nekā 80% no personām, kas inficētas ar baktēriju, nav simptomu, tika noskaidrots, ka tai var būt svarīga loma dabiskā kuņģa ekoloģijā [33.].

Pašlaik šis mikroorganismu veids tiek uzskatīts par vienu no galvenajiem hroniskā gastrīta cēloņiem [37.]. Pastāv pierādījumi par kuņģa vēža atkarību no *Helicobacter pylori* infekcijas [38.].

#### 1.3.1. Helicobacter pylori kuņģa vēža patoģenēzē.

Ir statistiski pierādīts, ka inficētajiem ar šo baktēriju ir palielināts risks saslimt ar kuņģa vēzi. Šī baktērija izraisa histoloģiskas izmaiņas, kas izraisa vēža attīstību – gļotādas atrofiju, zarnu metaplāziju un epitēlija displāziju [39.]. 1994. gadā Starptautiskā Vēža izpētes aģentūra (IACR) *H. Pylori* atzīmēja kā 1 grupas kancerogēnu. Par 1 grupas kancerogēniem IACR uzskata vides faktorus, kuriem ir pietiekami pierādījumi par kancerogenitāti cilvēkiem [40.].

*Helicobacter pylori* infekcija ir nopietnākais kuņģa vēža riska faktors. *Helicobacter pylori* izskaušana ir daudzsolīga stratēģija kuņģa vēža incidences mazināšanai. Tā ir efektīvāka, ja veikta pirmsvēža kuņģa bojājumu atklāšana [41.].

Mehānisms, kā *Helicobacter pylori* izraisa kuņģa vēzi, potenciāli ietver hronisku iekaisumu [42.]. Ilgtermiņa infekcija var novest pie iekaisuma un pirmsvēža izmaiņām kuņģa iekšējā slānī. Šī baktērija ir saistīta arī ar čūlām un dažām kuņģa vēža limfomām. Bet lielākā daļa cilvēku, kas nēsā šo baktēriju, nekad nenaslimst ar kuņģa vēzi [43.].

Lai gan *Helicobacter pylori* infekcija nav izraisījusi saslimšanu lielākai daļai inficēto cilvēku, tas ir galvenais riska faktors peptiskai čūlas slimībai, un atbildīga par lielāko daļu čūlu attīstību kuņģī un augšējā tievajā zarnā. Inficēšanās ar *Helicobacter pylori* ir galvenais identificētais kuņģa vēža cēlonis. *Helicobacter pylori* izraisītu kuņģa vēzi sauc arī par

epidemioloģisko kuņģa vēzi vai intestināla tipa kuņģa vēzi. Kuņģa vēža gadījumā kuņģa gļotādā notiek pārmaiņas, kuru rezultātā attīstās gastrīts, atrofijas, intestināla metaplāzija (IM) un displāzija [44.].

Epidemioloģijas pētījumi ir pierādījuši, ka cilvēkiem, kuri ir inficēti ar *Helicobacter pylori* ir paaugstināts risks saslimt ar kuņģa adenokarcinomu. 2001. gadā kombinētā *Helicobacter pylori* un kuņģa vēža 12 pētījumu analīze uzrāda, ka ar *Helicobacter pylori* inficētiem pacientiem adenokarcinomas risks ne cardia kuņģa reģionos bija gandrīz sešas reizes lielāks nekā neinficētiem pacientiem [45.].

Kontrolētie potenciālie pētījumi uzrāda, ka kuņģa vēzis inficētajiem ar *Helicobacter Pylori* attīstās 4–6 reizes biežāk nekā neinficētajiem. Ilgtermiņa pacientu (ar dažādiem kuņģa traucējumiem) uzraudzība uzrādīja, ka apmēram pēc 8 gadiem, gandrīz 3% no inficētajiem ar *H. Pylori* attīstījās kuņģa vēzis, bet neinficētiem netika nekas novērots.

Piemēram, Somijā 15 gadu laikā ir samazinājies kuņģa vēža biežums par 31%, un gastrīts par 38%. Viens no inficēšanās ar *Helicobacter Pylori* lejupslīdes iemesliem ir pēdējos gados polinepiesātināto taukskābju un būtisku taukskābju patēriņa pieaugums, kas inhibē *Helicobacter Pylori* vairošanos [2.].

### 1.3.2. *Helicobacter pylori* patofizioloģija

Lai izdzīvotu skarbajā, skābajā kuņģa vidē, *Helicobacter pylori* izdala enzīmu ureāzi, kas pārveido ķīmisko urīnvielu par amoniju un bikarbonātu. To producēšanās ap *Helicobacter pylori* neitralizē kuņģa skābumu, padarot to viesmīlīgāku baktērijām. Izveidojas  $\text{NH}_4\text{OH}$ , kas šūnā bloķē vielmaiņas procesus [35.]. Bez tam, *Helicobacter pylori* spirālveida forma ļauj tai slēpties gļotu slāni, kur ir mazāk skābs, nekā iekšējā telpā [36.].

*Helicobacter pylori* ražo varbūtējos slimību izraisošos faktoros, tostarp ureāzi, vakuolizācijas citotoksīnu, katalāzes un lipopolisaharīdus [46.]. Ureāze, spēcīgs antigēns, inducē lielāku imūnglobulīnu G un imunoglobulīnu A veidošanos. Tiek uzskatīts, ka *Helicobacter Pylori* sintezē vairākas vielas (vakuolizējošo toksīnu, acetaldehīdu, mukolītisko faktoru), kas kairina kuņģa gļotādu, izraisa iekaisumu ar neizbēgamu neitrofilu infiltrāciju audos. Tie savukārt iekaisuma reakcijā izdala brīvos radikāļus un citotoksīnus, kas var izraisīt DNS bojājumus un veicina gēnu mutācijas [46.]. Katalāze palīdz *Helicobacter pylori* izdzīvot novēršot reaktīvo skābekļa metabolītu veidošanos no ūdeņraža peroksīda [47.]. Tā producē arī

hidrogenāzi, ko izmanto, lai iegūtu enerģiju, oksidējot molekulāro ūdeņradi (H<sub>2</sub>), ko ražo zarnu baktērijas [36.], un spēj veidot mikroorganismu bioplēves [48.], turklāt tā var pārveidoties no spirāles formas uz iespējami dzīvotspējīgāku formu [49.], kas varētu veicināt tās izdzīvošanu.

Citotoksīna saistīts antigēns (CagA), iespējams, ir vissvarīgākais virulences faktors *Helicobacter pylori* infekcijā. Individīdiem, kas inficēti ar CagA negatīviem celmiem var attīstīties tikai hronisks gastrīts, un ir maza iespēja saslimt ar kuņģa čūlas slimību vai kuņģa vēzi. Turpretī, inficēšanās ar CagA pozitīviem celmiem ievērojami palielina kuņģa čūlas un kuņģa vēža risku. CagA proteīna translokācija kuņģa epitēlija šūnās izraisa citoskeleta pārveidošanos, tādējādi izmainot šūnas signalizāciju un traucējot šūnu cikla kontrolei. Turklāt ir zināms, ka CagA pozitīvi celmi izraisa DNS rediģēšanas fermenta ekspresiju, kas noved pie mutāciju uzkrāšanos audzēja supresorā – p53 [47.].

*Helicobacter pylori* infekcijas gadījumā kuņģa gļotādā esošās plazmas šūnas izstrādā specifiskas antivielas IgA, IgG, kas vērstas pret dažādu mikroorganismu olbaltumvielām, tai skaitā CagA [35.].

Imūnsistēmas šūnas, kas parasti atpazīst un uzbrūk svešajām baktērijām, nespēj sasniegt kuņģa gļotādu. Turklāt *Helicobacter pylori* ir izstrādājusi veidus kā traucēt imūnās atbildes reakcijai, padarot to neefektīvu baktērijas likvidācijai [50.].

### 1.3.3. *Helicobacter pylori* izplatība pasaulē

*Helicobacter pylori* tiek atzīmēta kā ļoti sastopams baktērijas veids, jo īpaši jaunattīstības valstīs, kurās tā ir skārusi gandrīz visus iedzīvotājus, turklāt inficēšanās notiek agrā bērnībā un saglabājas praktiski visu dzīvi [37.].

Vairāk nekā 50% pasaules iedzīvotāju patver *Helicobacter pylori* savā augšējā gremošanas traktā. Infekcija ir vairāk izplatīta jaunattīstības valstīs, un sastopamības biežums samazinās Rietumu valstīs [37.]. Slimību kontroles un profilakses centrs (CDC) lēš, ka aptuveni divas trešdaļas pasaules iedzīvotāju nēsā šīs baktērijas, infekciju rādītāji ir daudz lielāki jaunattīstības valstīs nekā attīstītajās valstīs [31.].

Tiek uzskatīts, ka *Helicobacter pylori* izplatīšanās notiek caur piesārņotu pārtiku un ūdeni vai tiešā kontaktā no mutes mutē, jo tās dažreiz atrod mutē uz zobiem. Vairumā populācijas

baktērija pirmo reizi tiek iegūta tieši bērnībā. Bērni, kas dzīvo pieblīvētos apstākļos un ar zemāku sociālekonomisko statusu, visticamāk, ir inficēti [51.].

#### 1.3.4. Helicobacter pylori izplatība Latvijā

Kopējā pieaugušo iedzīvotāju inficētība ar Helicobacter pylori Latvijā ir ļoti augsta – 79% [52.]. Nesen Latvijas Universitātes ERAF projekta ietvaros veiktajā pētījumā tika pierādīts, ka 79% no mūsu valsts iedzīvotājiem „nēsā” šo mikroorganismu; tas arī izskaidro slikto kuņģa vēža statistiku valstī [53.]. Pēc 50 g. v. inficēti ir aptuveni 50%. Latvijā 70 – 80% skolas bērnu ir inficēti [35.].

#### 1.3.5. Helicobacter pylori izskaušana.

Pirmais ziņojums par Helicobacter pylori izskaušanu publicēts 1990. gadā Sidnejā. Šajā laikā uzskatīja, ka izskaušana jāveic tikai čūlas slimības sarežģījumu gadījumos. Pēdējo desmit gadu laikā ir veikti vairāk kā 5000 klīniski pētījumi veltīti Helicobacter pylori izskaušanai, kuros ārstam ir grūti orientēties [53.].

Amerikas Savienotajās Valstīs galvenā čūlas ārstēšanas metode Helicobacter pylori infekcijas gadījumā ir terapija, kas balstīta uz protonu sūkņa inhibitoriem, tādējādi 85–90% gadījumu baktēriju var izskaust, taču infekcija var atkārtoties, ja terapija netiek stingri ievērota. Sevišķi efektīvi Helicobacter pylori iznīcina terapija, kurā bismuta savienojumi tiek vienlaicīgi lietoti ar antibiotikām: amoksicilīnu, eritromicīnu, tetraciklīnu vai klaritromicīnu, furazolidonu (nitrofurānu) un metranodazolu (pretprotozoju līdzekli). Ņemot vērā, ka Helicobacter pylori ir grūti iznīcināma, vienlaicīgi nepieciešams lietot divus vai pat trīs antibakteriālos līdzekļus kopā ar sālsskābes sekrēciju nomācošu preparātu, piemēram, omeprazolu. Pasaulē tiek izmantotas dažādas kombinācijas, apmēram 90% izskaušanu nodrošina 7 dienu laikā (“itāļu trīskāršā 12 terapija”, kurā ietilpst omeprazola, metronidazola un klaritromicīna vienlaicīga lietošana) [54.].

Helicobacter pylori infekcijas izskaušana ir daudzsološa stratēģija kuņģa vēža saslimstības mazināšanai, bet tā varētu būt vēl efektīvāka, ja notiktu pirmsvēža kuņģa bojājumu un stāvokļu atklāšana. Tikai divi klīniskie pētījumi ir veikti, lai noteiktu, vai iznīcinot Helicobacter pylori infekciju ar pretmikrobu terapiju, samazinās saslimstība ar

kuņģa vēzi. Sešu randomizēto pētījumu meta-analīzē liecina, ka infekcijas iznīcināšana var nedaudz samazināt kuņģa vēža risku [55.].

Helicobacter pylori izskaušanas pamatshēma: PSI 20 mg, klaritromicīns 500 mg un amoksicilīns 1000 mg. Divas reizes dienā pirms ēšanas, ārstēšanas kurss 7 dienas. Latvijā, lietojot šo shēmu, Helicobacter pylori izskaušana panākta vairāk nekā 80% gadījumu. Starptautiski atzīta ir shēma, kas Latvijai apstākļiem ir mazāk piemērota, jo ir daudz metronidazola rezistentu Helicobacter pylori paveidu: PSI 20 mg, klaritromicīns 250 mg, metronidazols 500 mg – lieto divas reizes dienā pirms ēšanas, ārstēšanas kurss 7 dienas. Ja pamatshēma nav ļāvusi izskaust Helicobacter pylori, tad mēģinājums izskaust Helicobacter Pylori jāatkārto ar otrās kārtas shēmu: PSI 20 mg × 2, koloidālā bismuta subsalicilāts un/vai subcitrāts 120 mg × 4, metronidazols 500 mg × 3, tetraciklīns 500 mg × 4. Ārstēšanas kurss 14 dienas. Helicobacter pylori izskaušanas procenti variē robežās no 42%–98% [53.].

### 1.3.6. Helicobacter pylori diagnosticēšana

1. <sup>13</sup>C elptests (<sup>13</sup>C-UET) – urīnvielas elptests (UBT) ir viena no visnozīmīgākajām Helicobacter pylori infekcijas neanzīvām noteikšanas metodēm. Testā izmanto ureāzes enzīma perorāli lietotajamās urīnvielas hidrolīzi, lai noteiktu Helicobacter pylori klātbūtni, un tas pamatojas uz Helicobacter pylori ureāzes spēju sadalīt urea, atbrīvojot ogļskābo gāzi un neradioaktīvo <sup>13</sup>C atomu, kas difundē asinīs un tiek izvadīts caur plaušām, nosakot to izelpojamajā gaisā. Izotopiski marķētu CO<sub>2</sub> var noteikt elpā, izmantojot dažādas metodes. <sup>13</sup>C ir neradioaktīvais izotops, kas ir nekaitīgs un droši lietojams bērniem un sievietēm reproduktīvā vecumā [56.].
1. Seroloģiska analīze – var noteikt Helicobacter pylori IgG, IgA un IgM antivielas, bet zemās jutības dēļ, IgM antivielas netiek noteiktas. Nosakot Helicobacter pylori infekciju pārsvarā tiek izmantotas IgG antivielas, jo tām ir augstāka jutība (87,6%) un specifiskums (61,0%), salīdzinot ar IgA antivielām (70,0% un 60,4%) un IgM antivielām (67,0% un 49,2%) [57.].

Seruma paraugu var izmeklēt ar IFA (Imūnfermentatīvā analīze) jeb „ELISA” (enzyme linked immunosorbent assay) metodi vai imūnblotu.

- a) ELISA metode nosakot IgA un IgG antivielas. Pozitīvs testa rezultāts norāda par Helicobacter pylori specifisku antivielu klātbūtni, taču neļauj noteikt vai cēlonis ir aktīva infekcija vai arī asimptomātiska Helicobacter pylori kolonizācija. Šis tests

nepierāda gremošanas trakta slimību. Tā kā *Helicobacter* antigēni ir līdzīgi *Campylobacter* antigēniem, ir iespējami viltus pozitīvi rezultāti, ja ir izveidojušās antivielas pret otru izraisītāju. Negatīvs testa rezultāts norāda, ka antivielu pret *Helicobacter pylori* nav vai arī to koncentrācija ir tik niecīga, ka nav nosakāma. Daļai pacientu (2–7%), kam ir diagnosticēta infekcija, var būt negatīvs IgG rezultāts, bet pozitīvs IgA rezultāts. Arī antivielu veidošanās dinamika pēc antibakteriālas terapijas ir atšķirīga, tāpēc ieteicams paralēli noteikt abu klašu antivielas. Rezultāti vienmēr jāinterpretē, ņemot vērā pacienta veselības vēsturi, klīniskos simptomus [58].

- b) Imūnblots – var noteikt inficēšanos ar specifiskiem tiem (virulentiem vīrusiem), jutīga arī bērniem. Metode ļauj arī noteikt infekciju ar specifiskiem celmiem [54].

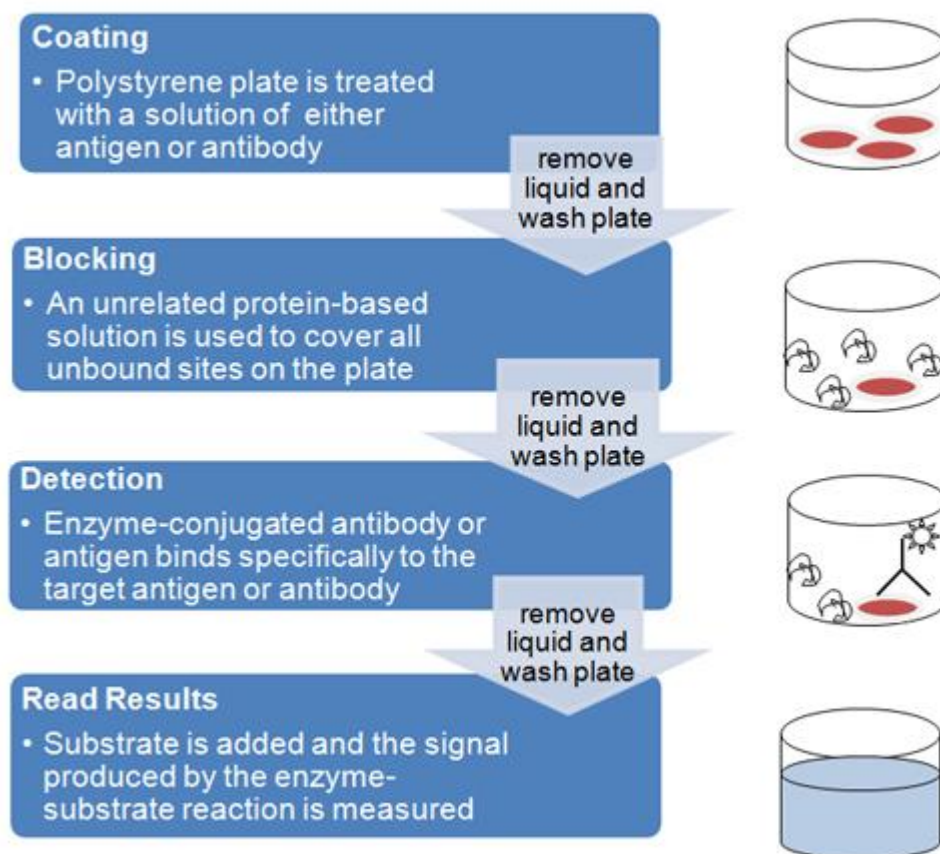
### 1.3.7. ELISA

Enzīmu saistīts imūnosorbcijas tests (ELISA) ir laboratorijas metode, kas tiek izmantota, lai mērītu analizējamās vielas koncentrāciju, kas parasti ir antivielas vai antigēni šķīdumā. ELISA pamatā, vai fermentu imūnanalīze (IVN), atšķiras no citiem uz antivielu balstītiem testiem, jo specifiskās un nespecifiskās mijiedarbību atdalīšana notiek caur virknes saistīšanos pie cietas virsmas, parasti polistirola daudzslodziņu plāksnes, un tāpēc var sasniegt kvantitatīvus rezultātus. ELISA testa posmu rezultātā tiek iegūts krāsains galaprodukts, kas korelē ar analizējamās vielas daudzumu.

ELISA sākas ar pārklājumu soli, kur pirmais slānis ir vai nu antigēns vai antiViela, kas ir adsorbēta uz polistirola 96 bedrīšu plates (adsorbcijas ir pasīva šķidrums piestiprināšanas metode uz cietas virsmas, veidojot plānu plēvi). Pārklājumam seko bloķēšanas un atklāšanas solis.

Tā kā pārbaudē izmanto virsmas saistīšanos atdalīšanu, starp katru ELISA soli tiek atkārtotas vairākas mazgāšana, lai likvidētu nesaistītos materiālus. Šajā procesā ir svarīgi noņemt lieko šķidrumu, lai novērstu nākamajā posmā pievienotā šķīduma atšķaidīšanos. Lielākai konsekvencei tiek izmantota specializēta plates mazgāšana.

ELISA var būt diezgan sarežģīta, ieskaitot dažādus iesaistītos soļus un spēju novērtēt proteīnu koncentrāciju neviendabīgās paraugos, piemēram, asinīs. Visvairāk kompleksu un dažādu posmu ir atklāšanas procesā, kurā vairāki antivielu slāņi var tikt izmantoti, lai pastiprinātu signālu.



ELISA ir balstīta uz konkrēto mijiedarbību starp epitopu, mazu lineāru vai antigēna trīsdimensiju aminoskābju secību, un pieskaņotu antivielas saistīšanās vietu. Antivielas, ko izmanto ELISA testos, var būt monoklonālas (iegūtas no unikālām antivielu producējošām šūnām – hibridomām, kuras spēj specifiski saistīties ar vienu unikālu epitopu) vai poliklonālas (antivielas, kuras attīrītas no dzīvnieku seruma, kas spēj saistīties ar vairākiem epitopiem).

ELISA, pēc definīcijas, izmanto fermentu marķējumu, lai ražotu detektēšanas signālu, kas ir tieši saistīts ar antivielas saistīšanos ar antigēnu. Beigu signāls tiek mērīts ar spektrofotometrisko vai fluorescējošu plates nolasītāju, kas ir atkarīgs no izvēlētā substrāta.

ELISA tests sniedz trīs dažāda veida datus:

1) Kvantitatīvos:

ELISA datus var interpretēt, salīdzinot ar kalibrēšanas līkni, lai precīzi aprēķinu antigēna koncentrāciju dažādos paraugos.

2) Kvalitatīvos:

ELISAs var arī izmantot, lai noteiktu kāds antigēns atrodas paraugā [59].

### 1.3.8. ELISA Helicobacter pylori diagnosticēšanā

Attīrītu Helicobacter pylori antigēnu saista uz virsmas mikrobedrītēm. Atšķaidīts pacienta serums tiek ievietots mikroplates bedrītēs, un Helicobacter pylori IgA specifiskā antivielā, ja pastāv, saistās ar antigēnu. Visi nesaistītie materiāli tiek nomazgāti. Pēc tam tiek pievienots enzīmu konjugāts, kas saistās ar antivielu-antigēnu kompleksu. Enzīmu konjugāts ir jānomazgā un jāpievieno TMB hromogēniskus substrāts. Enzīmu konjugātu katalītiskā reakciju apstājas specifiskā laikā. Radušās krāsas intensitāte ir proporcionāla IgA specifisku antivielu daudzumam paraugā. Rezultātus nolasa ar specializētu lasītāju paralēli kalibratoram un kontrolei [60.].

## 2. Materiāli un metodes

### 2.1. Pacienti

Bakalaura darbs praktiskā daļa tika izstrādāta Latvijas Onkoloģijas centrā. Kopumā pētījumā tika iesaistīti 166 pacienti – 84 pacienti ar histoloģiski pierādītu kuņģa vēža diagnozi, kas ārstējās RAKUS Latvijas Onkoloģijas centrā periodā no 2009. līdz 2012. gadam; 82 pacienti ar labdabīgām gastrointestinālā trakta slimībām, no Gremošanas centra „Gastro” un 34 donori no RAKUS Gaiļezera Asins pārliešanas centra. Sieviešu un vīriešu attiecība kuņģa vēža pacientiem bija 2.37:1, donoriem 1.77:1 un pacientiem ar gastrointestinālām slimībām 0.44:1.

Kuņģa vēža pacienti bija vecumā no 28 līdz 88 gadiem (mediāna 66 gadi). Pacienti ar ne ļaundabīgām gastrointestinālām slimībām no 22 līdz 27 gadi (mediāna 40 gadi) un donori bija vecumā no 23 līdz 57 gadiem (mediāna 37 gadi).

### 2.2. Laboratorijas metodes

Cellulārā fibronektīna ELISA tests kit tika izmantots, lai noteiktu celulārā fibronektīna koncentrāciju seroloģiskajos paraugos.

Šī metode ir balstīta uz sandwich enzīmu imunoloģisko tehnoloģiju ar CFN specifisku antivielu adsorbcijas tehniku uz mikrobedrīšu plates un antivielas atklāšanu, marķētu ar specifisku mārrotku peroksidāzi (HRP).

Pārbaude norit saskaņā ar šādām reakcijām.:

1. Monoklonālās antivielas, specifiskas cilvēka CFN, pievienotas polistirola virsmas bedrītēm saista CFN molekulu, kas ir paraugā.
2. Bedrītes tiek skalotas, lai noņemtu atlikušo paraugu.
3. HRP-monoklonālo antivielu konjugāts tiek pievienots bedrītēs un tas saistās ar CFN molekulu.
4. Bedrītes mazgā un tiek pievienots TMB-substrāts, rodas zilā krāsā HRP fermentatīvā ūdeņraža peroksīda degradācijas laikā.
5. Enzīmu reakcija tiek pārtraukta. Izveidojies galaprodukts mikrobedrītēs kļūst dzeltens un šis dzeltenās krāsas intensitāte ir saistīta ar cFN koncentrāciju paraugā.

**Biohit Oyj.** Cellular Fibronectin. ELISA Kit for the Measurement of Human Cellular Fibronectin in EDTA-Plasma.

*H.pylori* izplatība tika noteikta pēc imūnglobulīna G (IgG) grupas antivielām serumā, izmantojot Biohit *H.pylori* imūnfermentatīvo metodi ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*). Par *H.pylori* seropozitīvām personām tika uzskatītas tās, kurām anti – *H.pylori* IgG antivielas bija  $\geq 30$  EIU.

Metodē sekojošās reakcijas:

1. Daļēji attīrīts *H.pylori* antigēns, kas ir piestiprināts polisterola virsmas bedrītēm, saista IgG antivielas pie *H. Pylori*, kas ir atrodama cilvēka serumā.
2. Mikrobedrītes tiek mazgātas, lai atbrīvotos no seruma parauga atlikumiem.
3. Monoklonālās anti-cilvēka antivielas (anti-IgG), konjugētas ar mērrutku peroksidāzi saistās ar *H.pylori* antivielām.
4. Mikrobedrītes tiek atkārtoti mazgātas, tiek pievienots TMB substrāts. Ferments oksidē substrātu līdz gala produkts tiek iekrāsots zilā krāsā.
5. Enzimātiskā reakcijas apstājas. Paraugi, kas satur IgG antivielas pret *H.pylori* pārvēršas dzeltenā krāsā

### 2.2.3. Statistiskā analīze

Mann-Whitney U tests tiek izmantots, lai salīdzinātu atšķirības starp divām neatkarīgām grupām, kad atkarīgais mainīgais ir vai nu kārtas skaitlis vai intervāls / attiecība, bet nav normāli sadalīts. Darba ietvaros tika izmantots Mann Whitney U test, lai determinētu atšķirības starp kuņģa vēža un kontroles grupu, lai iegūt mērījumu datu varbūtības (P) vērtību. Varbūtības vērtības, kas ir mazāks nekā 0,05 tiek uzskatītas par statistiski nozīmīgām.

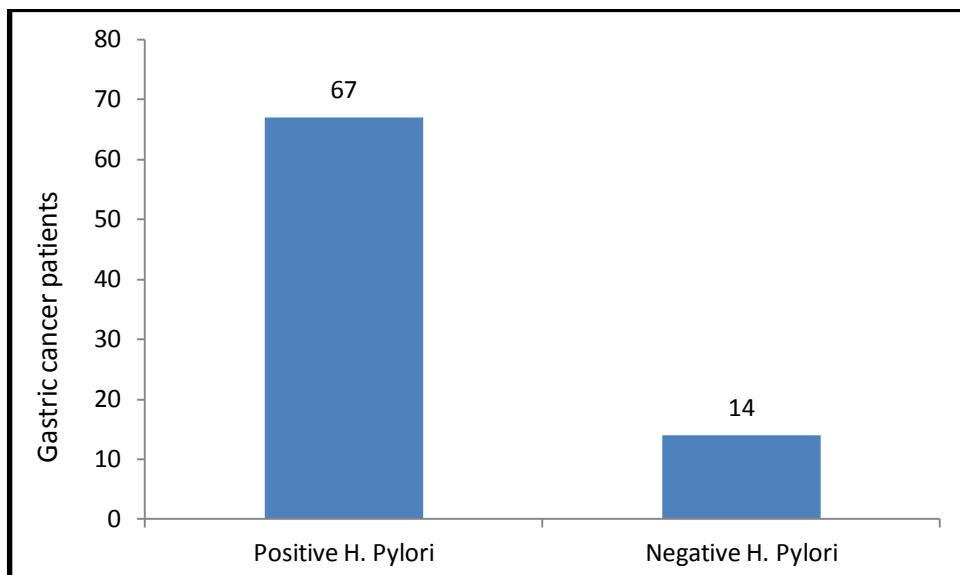
Studjenta t kritērijs neatkarīgām izlasēm tika izmantots, lai pārbaudītu celulārā fibronektīna vidējās vērtības grupās – *H.pylori* pozitīviem un *H.pylori* negatīviem kuņģa vēža pacientiem. Rezultātu interpretācija ja  $p \leq 0.05$ , tad abu grupu vidējās vērtības neatšķiras.

### 3. Rezultāti

81 pacientiem, kuriem ir histoloģiski pierādīts kuņģa vēzis, H.pylori izplatība tika noteikta pēc imūnglobulīna G (IgG) grupas antivielām serumā. Laboratoriskās pārbaudes tika veiktas jau iepriekš no 2009 – 2012. gadam, izmantojot Biohit H.pylori imūnfermentatīvo metodi ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*).

Apkopojot datus par šiem pacientiem, par H.pylori seropozitīvām personām tika uzskatītas tās, kurām anti – H.pylori IgG antivielas bija  $\geq 30$  EIU. No 81 pacienta, kuriem tika noteiktas H.pylori IgG antivielas serumā, 67 pacientiem (83%) tika atklāta H.pylori infekcija, bet tikai 14 pacientiem (17%) H.pylori infekcijas nebija (skat. *Tab. 3.1*). H. Pylori infekcija tiek uzskatīta par vienu no galvenajiem kuņģa vēža riska faktoriem, kas saistīta ar to, ka tā tiek novērota lielākai daļai kuņģa vēža pacientu un tikai nelielai kuņģa vēža slimnieku daļai tās nav, kas norāda uz citiem iespējamiem, nenoteiktiem riska faktoriem. Vērā ņemams fakts ir, ka pozitīvs testa rezultāts norāda par *Helicobacter pylori* specifisku antivielu klātbūtni, taču neļauj noteikt vai cēlonis ir aktīva infekcija vai arī asimptomātiska H. pylori kolonizācija.

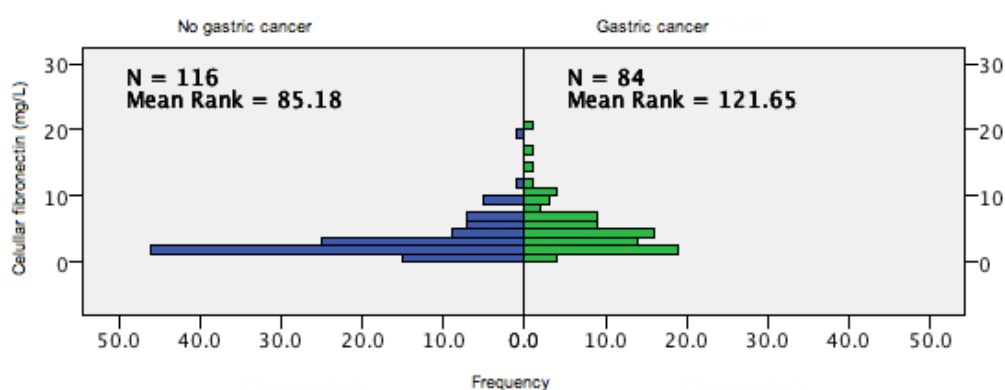
Daļai pacientu, kam ir diagnosticēta infekcija, var būt negatīvs IgG rezultāts, bet pozitīvs IgA rezultāts.



*Tabula 3.1. H.pylori klātbūtne kuņģa vēžu pacientu vidū.*

Celulārā fibronektīna koncentrācijas mediāna kuņģa vēža pacientiem bija 4.0 mg/L (interquartile range (IQR): 2,4 to 6,5 mg/L), bet celulārā fibronektīna koncentrācijas mediāna gastrointestinālo ne-ļaundabīgu slimību pacientiem bija 2,1 mg/L ((IQR): 1,4 to 3,7 mg/L) Celulārā fibronektīna koncentrācijas mediāna veseliem plazmas donoriem bija 3,1 mg/L ((IQR): 1,8 to 6,4 mg/L).

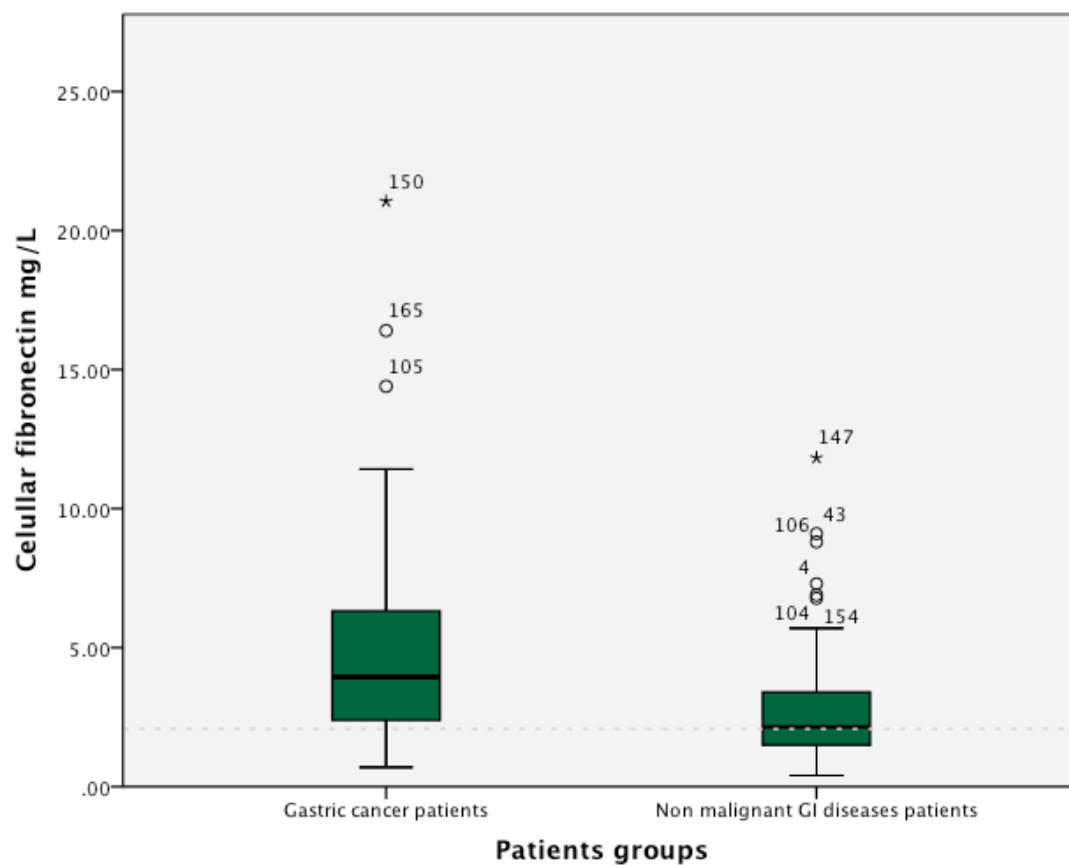
Mann-Whitney U testa rezultāti parāda, ka cFN koncentrācijas (mg/L) kuņģa vēža pacientiem un kontroles grupā atšķiras un šīs atšķirības ir statistiski nozīmīgas. Statistika tika veikta ar SPSS 19.0 (SPSS Inc., IBM corp., USA).



**Grafiks 3.2. Kuņģa vēža un kontroles grupas salīdzinājums**

cFN koncentrācija  $\geq 2,0773$  mg / L ir saistīta ar kuņģa vēža grupu salīdzinājumā ar kontroles grupas pacientiem ( $p < 0.001$ ). Iepriekš LOC veiktajā pētījumā, izmantojot *Receiver-operator curve (ROC)* tika iegūts, ka cFN koncentrācija, kas augstāka par 2,0773 mg / L ir saistīta ar kuņģa vēzi. Šīs metodes specifiskums ir 60%, bet jutīgums 80%, tāpēc mūsu pētījumā šī vērtība tika izmatota kā nominālā vērtība, salīdzinot celulārā fibronektīna koncentrāciju kuņģa vēža grupā ar kontroles grupu.

Jaukta Lauren tipa distālais kuņģa vēzis ir saistīts ar cFN koncentrāciju  $\geq 2,0773$  mg / L kuņģa vēža pacientiem ( $P = 0,004$ ). Nebija statistiski nozīmīgas atšķirības cFN koncentrācijā starp H. pylori pozitīviem un negatīviem pacientiem ar kuņģa vēzi, kā noteikts ar vienvirziena Stjudent t tests ( $P = 0.173$ ). Mann Whitney U testu rezultāti liecina par statistiski nozīmīgām atšķirībām cFN koncentrācijās starp kuņģa vēža un kontroles grupu ( $p < 0.05$ ).



**Grafiks 3.3.** cFN koncentrācija kuņģa vēža un neļaudabīgu kuņģa-zarnu trakta slimību pacientiem

## 4. Diskusija

Ir vispār atzīts fakts, ka lielākajā daļā valstu, vīrieši slimo ar kuņģa vēzi pusotru līdz divas reizes biežāk nekā sievietes, arī mūsu veiktajā pētījumā pierādījās, ka kuņģa vēža saslimstība vīriešiem ir gandrīz 3 reizes lielāka nekā sievietēm.

Zinātnieku veiktajos pētījumos lielākā cFN koncentrācijas paaugstināšanās tika novērota pacientiem ar aknu, aizkuņģa dziedzera un žultsceļu audzējiem [13.]. cFN koncentrācijas palielināšanās ir novērojama arī pacientiem ar kuņģa vēzi.

Kā trūkumu vēlos norādīt vecuma atšķirības, jo veiktajā pētījumā kuņģa vēža pacientiem vidēji bija 66 gadi, savukārt pacienti ar ne ļaundabīgām gastrointestinālām slimībām bija vidēji par 20 gadiem jaunāki un donoru vidējais vecums bija 37 gadi. Nav pētījumu, kas norāda vai vecums ietekmē cFN koncentrāciju. Lai rezultāti būtu precīzāki būtu jāveic pētījums, kuru mērķis būtu noskaidrot vai cFN ietekmē vecums.

Darba hipotēze tika apgāzta, jo nebija statistiski nozīmīgas atšķirības cFN koncentrācijā starp H. pylori pozitīviem un negatīviem pacientiem ar kuņģa vēzi, kā noteikts ar vienvirziena Student t tests ( $P = 0.173$ ). Apgalvot, ka cFN koncentrācija nav atkarīga no H.pylori infekcijas viena pētījuma ietvaros nav racionāli.

## Secinājumi

1. cFN koncentrācija, kas augstāka  $\geq 2,0773$  mg / L ir saistīta ar kuņģa vēža grupas pacientiem, salīdzinājumā ar kontroles grupas pacientiem ( $p < 0.001$ ). Starp grupām ir statistiski ticamas atšķirības
2. cFN koncentrācija  $\geq 2,0773$  mg / un H.pylori infekcija statistiski nav savstarpēji ticami saistītas pazīmes ( $p=0.173$ ).

## PATEICĪBAS

Īpaši vēlos pateikties Guntim Ancānam par atsaucību, palīdzību un atvēlēto laiku bakalaura darba izstrādē. Par teksta rediģēšanu un atblastu vēlos pateikties arī Anetei Dainai.

## Izmantotā literatūra

1. GOBOCAN 2008 [tiešsaite]. Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2008 [atsauce : 05.14.2013]. Pieejams internetā : <http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>
2. **Харнас, С.С., Левкин, В.В., Мусаев, Г.Х.** Рак желудка. Кафедра факультетской хирургии №1 лечебного факультета. Москва : Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, 2006. 84 стр.
3. **Ferlay, J., Shin, H.R., Bray, F., et al.** Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer* 2010; N 127, vol.12, p. 2893–2917.
4. **Rothenbacher, D., Arnd, V., Brenner, H.** Epidemiology of Stomach Cancer. *Methods in Molecular Biology*, 2009, vol. 472, p 467-477.
5. **De Vries A.C., et al.** Epidemiological trends of pre-malignant gastric lesions: a long-term nationwide study in the Netherlands. *Gut*, 2007, N 56, p. 1665-1670.
6. Doctus [tiešsaite]. Rīga: SIA izdevniecība Pilatus, 2012 [atsauce : 2013.04.23.]. Pieejams internetā: <http://www.doctus.lv/2012/3/gremosanas-sistemas-audzeju-profilakse>.
7. **Stengrevics, A.** *Onkoloģija ģimenes ārstam*. Rīga: SIA Medicīnas apgāds, 2009. 232.lpp.
8. **Hermanek, P.C.** Wittekind News of TNM and its use for classification of gastric cancer. *World J Surg*, 1995, 19 pp. 491–495.
9. **P. Laur'en.** The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. an attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1965, 64 pp. 31–49
10. **Vies, G.J., Huch, M.** Clevers, H. Stem cells and cancer of the stomach and intestine. *Molecular Oncology*, 2010, N 5, vol. 4, p. 373-384.
11. **Bing, H., Nassim, E.H., Sittler, S., et al.** Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *J Gastrointest Oncol*, 2012. 3(3): 251–261
12. **Nayoung, K., Hyun, C. J.** The Role of Serum Pepsinogen in the Detection of Gastric Cancer. *Gut and Liver*, 2011, N 3, vol. 4, p. 307-319.
13. **Haglund, C., Ylatupa, S., Mertaniemi, P.** Cellular fibronectin concentration in the plasma of patients with malignant and benign diseases: a comparison with CA 19-9 and CEA. *British Journal of Cancer*, 1997, N 76, vol. 6. p. 777-783.

14. Cancer staging. National Cancer Institute at the National Institutes of Health. [tiešsaiste] – [atsauce : 2013.04.25.]. Pieejams internetā:  
<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/detection/staging>
15. Cancer staging. National Cancer Institute at the National Institutes of Health. [tiešsaiste] – [atsauce : 2013.04.25.]. Pieejams internetā:  
<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/detection/staging>
16. **Sjodahl, K., Lu, Y., Nilsen, T., et al.** Smoking and alcohol drinking in relation to risk of gastric cancer: a population-based, prospective cohort study. *International Journal of Cancer*, 2007, Vol. 120. P 128 – 132
17. Cancer [tiešsaite]. Cancer Fact sheet N°297. World Health Organization, 2009 [atsauce : 2013.03.18]. Pieejams internetā:  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>
18. The Merck Manual [tiešsaite]. Stomach Cancer, Professional Edition [atsauce : 2013.03.24]. Pieejams internetā:  
[http://www.merckmanuals.com/professional/gastrointestinal\\_disorders/tumors\\_of\\_the\\_gi\\_tract/stomach\\_cancer.html](http://www.merckmanuals.com/professional/gastrointestinal_disorders/tumors_of_the_gi_tract/stomach_cancer.html)
19. Biochemistry [tiešsaite]. Белки межклеточный матрикса [atsauce : 23.04.2013]. Pieejams internetā: [http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Part110-712.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Part110-712.html)
20. International Agency for Research on Cancer [tiešsaite]. Globocan 2008, Latvia [atsauce : 2013.04.22]. Pieejams internetā :  
<http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp#BOTH>
21. **Ochsner, A., Weed, T. E., Nuessle, W. R.** Cancer of the stomach. *The American Journal of Surgery*, 1981, N 1, vol. 141, p. 10-14.
22. Sigma aldrich [tiešsaite]. Structural Proteins. Fibronectin [atsauce : 2013.04.13]. Pieejams internetā: <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/learning-center/structural-proteins/fibronectin.html>
23. **Mao, Y., Schwarzbauer, J. E.** "Fibronectin fibrillogenesis, a cell-mediated matrix assembly process". *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology*, 2005, N 24, vol. 6, p. 389 - 399.
24. **Kumazaki, T., Mitsui, Y., Hamada, et al.** Detection of alternative splicing of fibronectin mRNA in a single cell. *Journal of Cell Science*, 1999, N 112, p. 1449-1453.

25. **Pankov, R., Yamada, K.M.** Fibronectin at a glance. *Journal of Cell Science*, 2002, N 115, p : 3861 - 3862.
26. **Williams, C. M., Engler, A.J., Slone, R.D. et al.** "Fibronectin expression modulates mammary epithelial cell proliferation during acinar differentiation". *Cancer Research*, 2008, N 68, vol. 9, p. 3185 – 3192.
27. **Erickson, H.P.** Stretching fibronectin. *Journal of muscle research and cell motility*, 2002, N 23, vol. 6, p. 575 - 580.
28. **Warawdekar, U. M., Zingde S.M., Iyer K.S., et al.** Elevated levels and fragmented nature of cellular fibronectin in the plasma of gastrointestinal and head and neck cancer patients. *Clin Chim Acta*, 2006, N 372, vol. 2, p. 83-93.
29. **Vartio, T., Laitinen, L., Närvänen, O., et al.** Differential expression of the ED sequence-containing form of cellular fibronectin in embryonic and adult human tissues. *J Cell Sci*, 1987; 88:419-430
30. **Loridon, R. B., Viehl, P., Matsuura, H., et al.** Distribution of oncofetal fibronectin in human mammary tumors: Immunofluorescence study on histological sections. *Cancer Res*, 1990, vol 50, p.1608-1612
31. **Brenner, H., Rothenbacher, D., Arndt, V.** Epidemiology of stomach cancer. *Methods in Molecular Biology*, 2009; N 472, p. 467–477.
32. **Schaffner, F., Ray, A., M., Dontenwill, M.** Integrin  $\alpha 5\beta 1$ , the Fibronectin Receptor, as a Pertinent Therapeutic Target in Solid Tumors. *Cancers*, 2013, 5, 27-47
33. **Blaser, M. J.** "Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases". *EMBO Reports*, 2006, N 7, vol.10, p. 956 – 960.
34. **Atherton, J.C.** The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastro-duodenal diseases. *Annual Review of Pathology*, 2006; N 1, p. 63–96.
35. Gastroenteroloģija [tiešsaiste] – [atsauce : 2013. 05.02]. Pieejams internetā:  
<http://www.scribd.com/doc/48565225/5/Refluksa-ezofag%C4%ABta-komplik%C4%81cijas-un-un-%C4%81rst%C4%93%C5%A1anas-iesp%C4%93jas>
36. **Olson, J.W., Maier, R.J.** "Molecular hydrogen as an energy source for *Helicobacter pylori*". *Science*, 2002, N 298, p. 1788 – 1790.
37. **Leung, W.K., Sung, J.J.Y.** Review article: intestinal metaplasia and gastric carcinoma genesis. *Aliment Pharmacol Ther*, 2002, N 16, p. 1209-1216.

38. American Cancer Society [tiešsaite]. What Are The Risk Factors For Stomach Cancer [atsauce : 2013.04.03]. Pieejams internetā :  
<http://www.cancer.org/cancer/stomachcancer/detailedguide/stomach-cancer-risk-factors>
39. Proceedings of the fourth Global Vaccine Research Forum [tiešsaite]. Initiative for Vaccine Research team of the Department of Immunization, Vaccines and Biologicals. Epidemiology of *Helicobacter pylori* and gastric cancer WHO, 2004 [atsauce : 2013.03.27.]. Pieejams internetā :  
[http://www.who.int/vaccine\\_research/documents/en/gvrf2003.pdf](http://www.who.int/vaccine_research/documents/en/gvrf2003.pdf)
40. Gistar [tiešsaite]. Kuņģa vēzis. Rīga: Gistar group [atsauce : 2013.04.13.]. Pieejams internetā: <http://www.gistar.eu/lv-lv/home/gastriccancer.aspx>
41. **Malfertheiner, P., Megraud, F., Colm, The European Helicobacter Study Group (EHS), et. al.** Guidelines Management of Helicobacter infection - The Maastricht IV/Florence Consensus report. *Gut*, 2012, N 61, p. 646-664.
42. **Hatakeyama, M., Higashi, H.** Helicobacter pylori CagA: a new paradigm for bacterial carcinogenesis. *Cancer Science*, 2005, N 96, p. 835 - 843.
43. American Cancer Society [tiešsaite]. Stomach Cancer Overview [atsauce : 2013.04.13.]. Pieejams internetā:  
<http://www.cancer.org/cancer/stomachcancer/overviewguide/>
44. **Agreus, L., Kuipers, E., et al.** Rationale in diagnosis and screening of atrophic gastritis with stomach-specific plasma biomarkers. *Scandinavian J of Gastroenter*, 2012; N 47, p. 136-147
45. Helicobacter and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut* 2001, N49, vol. 3, p. 347–353.
46. **Tombola, F., Carlesso, C., Szabò, I., et al.** Helicobacter pylori vacuolating toxin forms anion-selective channels in planar lipid bilayers: possible implications for the mechanism of cellular vacuolation. *Biophys. J.*, 1999, N 76, vol. 3, p.:1401-1409.
47. **Mutaz, I. S., Cuffari, C. M.D.** Pediatric Helicobacter Pylori Infection [tiešsaite]. Medscape reference, 2012 [atsauce : 2013.04.13.]. Pieejams internetā:  
<http://emedicine.medscape.com/article/929452-overview#showall>
48. **Stark, R.M., Gerwig, G.J., Pitman, R.S. et al.** "Biofilm formation by *Helicobacter pylori*". *Lett Appl Microbiol*, 1999, N 28, vol. 2, p. 121–216.

49. **Chan, W.Y., Hui, P.K., Leung, K.M., et al.** Coccoid forms of *Helicobacter pylori* in the human stomach. *Am J Clin Pathol*, 1994, N 102, vol. 4, p. 503–507.
50. **Yamaoka, Y.** Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori* virulence factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2010, N 7, vol.11, p. 629–641.  
– 39.
51. Microbiology [tiešsaite]. H Pylori Bacteria or Helicobacter Pylori Bacteria [atsauce : 2013.04.15]. Pieejams internetā : <http://www.microbexpert.com/bacteria.html>
52. **Cine E.** H. pylori infekcijas un atrofiska gastrīta izplatība Latvijā. Diplomdarbs. Latvijas Universitāte, Rīga, 2012.
53. **Danilāns, A., Derova, J., Jansone, A.** Helicobacter pylori izskaušanas vadlīnijas [tiešsaite] – [atsauce 2013.05.11.]. Pieejams internetā : <http://www.gastroenterologs.lv/lv/vadlinijas/helicobacter-pylori-izkausanas-vadlinijas.html>
54. **Lašina, I.** Ar pepsinogēnu metodi noteiktas kuņģa gļotādas atrofijas īpatsvars pacientiem ar kuņģa vēzi. LU Medicīnas fakultāte. Rīga : Latvijas Universitāte, 2012. 37.lpp.
55. **Fuccio, L., Zagari, R.M., Eusebi, L.H., et al.** Meta-analysis: can *Helicobacter pylori* eradication treatment reduce the risk for gastric cancer? *Annals of Internal Medicine*, 2009; N 151, vol. 2, p.121–128.
56. **Savarino, V., Vigneri, S., Celle, G.** The 13C urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1999, 45, I18–I22
57. **She, R., C., Wilson, A., R., Litwin, C., M.** Evaluation of *Helicobacter pylori* Immunoglobulin G (IgG), IgA, and IgM Serologic Testing Compared to Stool Antigen Testing. *Clin Vaccine Immunol*, 2009, 16(8): 1253–1255.
58. **Baudre, B., Gavars, D., Gulbis, E., u.c.** Klīnisko analīžu rokasgrāmata E.Gulbja Laboratorija, 2011. Rīga: Apgāds Imanta.
59. Bio-Rad Laboratories [tiešsaite]. An Introduction to ELISA [atsauce : 2013.03.21.]. Pieejams internetā:<http://www.abdserotec.com/an-introduction-to-elisa.html>
60. Diagnostic Automation/Cortez Diagnostics Inc [tiešsaite]. H. pylori IgA ELISA kit [atsauce 2013.04.12.]. Pieejams internetā : <http://www.rapidtest.com/index.php?i=H.-pylori-IgA-ELISA-kit&id=141&cat=16>

## DOKUMENTĀRĀ LAPA

Bakalaura darbs „Celulārā fibronektīna koncentrācija kuņģa vēža pacientiem ar zināmu *Helicobacter pylori* infekciju” izstrādāts LU Medicīnas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: Elīna Maslobojeva

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs: pētnieks Guntis Ancāns

datums:

Recenzents: Doc. Līga Krīgere

datums:

Darbs iesniegts LU Medicīnas fakultātē

Komisijas sekretāre: Doc., Dr. pharm. Kristīne Saleniece

Darbs aizstāvēts bakalauru darbu gala pārbaudījuma komisijas sēdē