

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА**

**Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів
Кафедра біохімії та біотехнології**

**Біомаркери диференційної діагностики раку
шлунка**

Кваліфікаційна робота

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Виконала:

студентка 4 курсу, 411 групи

Гостюк Світлана Іванівна

Керівник:

кандидат біологічних наук,

асистент **Николайчук І.М.**

До захисту допущено
на засіданні кафедри

протокол № _____ від _____ 2023 р.

Зав. кафедрою _____ проф. Копильчук Г.П.

Анотація

Бакалаврська робота присвячена аналізу біомаркерів диференційної діагностики раку шлунка. У роботі проаналізовано наступні клініко-лабораторні та біохімічні показники: концентрація загального гемоглобіну, вміст гастрину-17, рівень онкомаркерів – раково-ембріонального антигену (СЕА) та СА 72-4 за умов перебігу кишкового та дифузного типів раку шлунка.

Показано, що розвиток злоякісного новоутворення шлунка супроводжується вираженою анемією, що характеризується максимально низькими значеннями вмісту гемоглобіну за умов перебігу дифузного типу раку, ніж при кишковій формі даного захворювання.

У хворих на рак шлунка спостерігається виникнення гіпергастринемії, що супроводжується зростанням вмісту гастрину-17 в сироватці крові незалежно від типу неопластичних змін – кишкового чи дифузного.

Поєднання визначення онкомаркера СА 72-4 з біомаркером СЕА може бути перспективним підходом для діагностики кишкового та дифузного типів раку шлунка та корисним орієнтиром для стратегічного планування індивідуального лікування.

Ключові слова: раково-ембріональний антиген, СА 72-4, гастрин-17, гемоглобін, рак шлунка

Annotation

The bachelor thesis is devoted to the analysis of biomarkers for the differential diagnosis of gastric cancer. The following clinical and laboratory and biochemical indicators were analyzed in the work: concentration of total hemoglobin, content of gastrin-17, level of tumor markers – carcinoembryonic antigen (CEA) and CA 72-4 under the conditions of the course of intestinal and diffuse types of stomach cancer.

It has been shown that the development of a malignant neoplasm of the stomach is accompanied by severe anemia, which is characterized by extremely low values of the hemoglobin content under the conditions of the course of the diffuse type of cancer, than in the case of the intestinal form of this disease.

In patients with gastric cancer, the occurrence of hypergastrinemia is observed, which is accompanied by an increase in the content of gastrin-17 in blood serum, regardless of the type of neoplastic changes - intestinal or diffuse.

Combining the determination of the tumor marker CA 72-4 with the biomarker CEA may be a promising approach for the diagnosis of intestinal and diffuse types of gastric cancer and a useful reference for strategic planning of individual treatment.

Key words: carcinoembryonic antigen, CA 72-4, gastrin-17, hemoglobin, gastric cancer

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів наукових досліджень інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ С.І. Гостюк
(підпис)

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Етіологія раку шлунка.....	7
1.2. Патогенез раку шлунка.....	11
1.3. Фактори ризику розвитку раку шлунка.....	13
1.4. Біомаркери раку шлунка.....	15
1.5. Неінвазивні біомаркери раку шлунка.....	18
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	21
2.1. Об'єкти та матеріали досліджень.....	21
2.2. Визначення концентрації загального гемоглобіну.....	21
2.3. Визначення вмісту гастрину-17.....	22
2.4. Оцінка рівня раково-ембріонального антигену (СЕА).....	22
2.5. Визначення рівня онкомаркера СА 72-4... ..	24
2.6. Статистичний аналіз даних.....	24
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	25
ВИСНОВКИ... ..	34
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	35
ДОДАТКИ.....	39

ВСТУП

Рак шлунка (РШ) є четвертим за поширеністю злоякісним захворюванням і другою основною причиною смертності від раку в усьому світі. Незважаючи на значне покращення виживаності пацієнтів із РШ, за останні декілька десятиліть він часто діагностується на пізній стадії, а прогнози все ще залишаються незадовільними через високу частоту рецидивів. Оскільки рак шлунка здебільшого протікає безсимптомно, поки не прогресує до прогресуючої стадії, раннє виявлення за допомогою ефективних скринінгових підходів є важливим для зниження смертності [1].

Рак шлунка – злоякісна епітеліальна пухлина, яка походить із клітин слизової оболонки. На ранніх стадіях пацієнти іноді можуть відчувати біль у спині або верхній частині живота та в області груднини. У міру зростання пухлини пацієнти схильні до відчуття ситості або здуття. Оскільки симптоми є підступними та їх важко виявити на ранній стадії, більшість пацієнтів із раком шлунка перебувають на середніх та пізніх стадіях, коли вони звертаються до лікаря. Ідеального лікування досі не існує. В даний час РШ все ще лікують хімотерапією як найкращим методом, який може подовжити загальну виживаність, однак, існує багато побічних реакцій, які важко переносяться деякими пацієнтами і яким легко протистояти під час лікування [2].

Через високу гетерогенність раку шлунка та різноманітність уражених тканин післяопераційний рецидив є основною причиною короткого часу виживання раку шлунка. Крім того, це також призводить до того, що смертність від раку шлунка займає третє місце серед усіх онкохворих, а 5-річна виживаність становить менше 20 %. В даний час методи моніторингу прогнозу раку шлунка все ще відсутні. Це стало невирішеною проблемою в сучасних дослідженнях раку шлунка [3].

Хоча основним типом РШ є аденокарцинома (приблизно 95 %), рак шлунка є генетично та біологічно гетерогенним із погано вивченим канцерогенезом на молекулярному рівні. Відносно невеликий відсоток випадків РШ пов'язаний з факторами харчування та генетичною схильністю, а основними

факторами ризику є наявність передракових уражень (дисплазії) та хронічної хелікобактерної інфекції [4].

Гастроскопія з біопсією є відповідним методом, який допомагає в діагностиці специфічних ранніх типів пухлин шлунка; але стрес, спричинений цим інвазивним методом, разом із тим фактом, що він дуже дорогий, ускладнюють його використання як рутинного методу скринінгу на рак шлунка [5].

Необхідною умовою зниження смертності та покращення лікування хворих на рак шлунка є раннє виявлення та моніторинг динаміки пухлин. Таким чином, виявлення раку шлунка на ранніх стадіях залишається величезною проблемою через вакантність специфічних тестів для виявлення. Отже, існує велика потреба у відкритті біомаркерів для неінвазивного раннього виявлення хворих на рак шлунка. Проведено багато досліджень, щоб знайти точні сироваткові та пухлинні біомаркери для виявлення раку шлунка. Перш за все необхідно дослідити нові ефективні біомаркери РШ, щоб допомогти в ранній діагностиці та плануванні лікування [6].

Біомаркери – це характеристики, які об’єктивно оцінюються та вимірюються як індикатор нормальних чи патологічних біологічних процесів або фармакологічної відповіді на терапію. Зазвичай використовуваними пухлинними маркерами є карцино-ембріональний антиген (CEA), вуглеводний антиген (CA 19-9) і вуглеводний антиген 72-4 (CA72-4). Проте жоден із них не демонструє високого рівня діагностичної точності [7].

Нещодавні дослідження з визначення біомаркерів РШ привели до відкриття широкого спектру молекул, пов’язаних із раком, включаючи різні білки, циркулюючі вільні мікроРНК (cfmiRNA), циркулюючу безклітинну ДНК (cfDNA), циркулюючі пухлинні клітини (СТС), аутоантитіла проти пухлинно-асоційовані антигени (ТАА) і позаклітинні везикули (EV) [8].

Мета роботи – проаналізувати біомаркери диференційної діагностики раку шлунка.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Етіологія раку шлунка

Рак шлунка є другою провідною причиною смертності від раку. Однак показники його захворюваності в різних географічних регіонах різко відрізняються. Етіологічно рак шлунка пов'язаний з інфекцією *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), факторами харчування та способом життя, а також генетичними факторами.

Причина раку шлунка є багатофакторною, хоча інфекція *Helicobacter pylori* вважається основною причиною; його ефекти модулюються мікробними факторами, факторами навколишнього середовища та господаря.

Рак шлунка є одним з небагатьох типів новоутворень, безпосередньо пов'язаних з інфекційним агентом. У 1994 році Міжнародне агентство з дослідження раку (IARC) класифікувало інфекцію *H. pylori* як канцероген класу I для людини при раку шлунка. Той самий інфекційний агент визнаний основною причиною лімфоми слизової оболонки шлунка, асоційованої з лімфоїдною тканиною (MALT) [9].

H. pylori є грамнегативною бактерією, здатною колонізувати слизову оболонку шлунка та викликати імунну відповідь у господаря. Інфекція переважно виникає в ранньому дитинстві і залишається наявною на все життя, якщо не лікувати антибіотиками. Один з видів гастриту, пов'язаний з інфекцією, а саме мультифокальний атрофічний гастрит, може бути пов'язаний з передраковим процесом. Ненатрофічний антральний гастрит не пов'язаний з передраковим процесом, але може бути пов'язаний з виразкою дванадцятипалої кишки. Активні форми кисню (АФК) можуть утворюватися інфекцією та індукувати мутації ДНК. *H. pylori* також здатний індукувати гіперметилування ДНК, особливо CpG-острівців, тим самим пригнічуючи гени, пов'язані з пригніченням пухлини [10].

Штами *H. pylori* значно відрізняються за своєю патогенністю та канцерогенністю. Більш вірулентні штами несуть цитотоксичний ген *cagA*, що кодує онкогенний білок, який може бути введений безпосередньо в епітеліальні

клітини шлунка системою секреції типу IV. Більшість штамів у Східній Азії та в зоні високого ризику в колумбійських Андах є *cagA*-позитивними. Після потрапляння в цитоплазму епітеліальних клітин шлунка *CagA* фосфорилується в мотивах, які містять послідовності EPIYA, і запускається каскад молекулярних подій, пов'язаних з канцерогенезом. Послідовності EPIYA класифікуються як A, B, C або D відповідно до амінокислот, що їх фланкують. Кількість і тип мотивів EPIYA варіюють у різних штамів *H. pylori*. У західних країнах штами *H. pylori* містять мотиви EPIYA A, B і C. У Східній Азії штами містять мотив D замість мотиву C. Штами з більш ніж 3 мотивами EPIYA значно більше викликають атрофію шлунка, кишкову метаплазію та рак шлунка [11].

Дослідження *in vivo* та *in vitro* показали, що *CagA* викликає руйнування міжклітинних з'єднань, втрату полярності епітелію, збільшення проліферації, зниження апоптозу та, зрештою, канцерогенність. Іншим геном, асоційованим з вірулентністю, є *vacA*, який індукує цитоплазматичні вакуолі, пори в клітинній мембрані та апоптоз. Хоча всі штами *H. pylori* містять ген *vacA*, генетичні варіації визначають його функціональну активність і ризик раку. Ген *vacA* має генетичні варіації в області *s* (сигналу), яка може бути *s1a*, *s1b*, *s1c* або *s2*. Середня область показує алелі, які можуть бути *m1* або *m2*, а проміжна область може бути *i1* або *i2*. Штами *vacA s1/m1* або *vacA s1/m1/i1* мають вищий ризик прогресування та раку, ніж штами *vacA s2/m2* або *vacA s2/m2/i2* [12].

Деякі білки адгезії мембрани пов'язують з більшою вірулентністю. Одним із них є *BabA* (антигенозв'язуючий адгезин групи крові), який кодується геном *babA*, присутнім не у всіх штаммах. *BabA* приєднується до антигену Lewis b, присутнього в мембрані епітеліальних клітин. Інфекції *babA2*-позитивними штамами *H. pylori* пов'язані з більшим ризиком раку.

Як було помічено давно, карциноми шлунка рідко розвиваються в шлунку без гастриту. З визначенням *Helicobacter pylori* як основної причини гастриту, слід було очікувати, що *H. pylori* незабаром буде визнано найважливішим фактором канцерогенезу шлунка як для дифузних карцином, так і для ки-

шкового типу. Однак *H. pylori*-інфекція, обмежена слизовою оболонкою антрального відділу, викликає виразку дванадцятипалої кишки, але, очевидно, захищає від розвитку карциноми шлунка. Таким чином, здається, що *H. pylori*-інфекція сама по собі не є канцерогенною. Крім того, стало зрозуміло, що оксинтальна атрофія є важливою для раку шлунка, включаючи канцерогенну дію *H. pylori*-інфекції. Оксинтний атрофічний гастрит знижує секрецію шлункової кислоти, що вказує на те, що канцерогенна дія *H. pylori*, швидше за все, пов'язана зі зниженою кислотністю шлунка. Оскільки основною функцією шлункової кислоти є знищення проковтнутих мікроорганізмів, можливо, вторинні інфекції можуть відігравати певну роль у канцерогенезі шлунка. Якщо це так, то можна було б очікувати, що *H. pylori*-інфекція з атрофічним оксинтичним гастритом призведе до розвитку карциноми незалежно від анатомічної локалізації та типу слизової оболонки. Проте *H. pylori*-інфекція не викликає схильності до раку шлунка, локалізованого в кардіальному відділі. Крім того, так званий аутоімунний гастрит, який обмежений оксинтальною слизовою оболонкою, де він викликає повну атрофію залоз, сприяє розвитку раку шлунка лише в оксинтній слизовій оболонці. Відповідно, вторинна мікробна інфекція не може пояснити канцерогенний ефект оксинтичного атрофічного гастриту через аутоімунну або спричинену *H. pylori* оксинтну атрофію. З іншого боку, оксинтна атрофія знижує кислотність шлунка, що призводить до гіпоацидності та гіпергастринемії. Мішенню гастрину є оксинтальна слизова оболонка, а точніше ECL-клітина [13].

Гастрин регулює функцію клітин ECL, вивільнення гістаміну і, одночасно, проліферацію клітин ECL. Тривала гіпергастринемія викликає гіперплазію клітин ECL у гризунів, а також у людей, що з часом призводить до пухлин клітинного походження ECL та пухлин NE-клітин шлунка (NET) у всіх досліджених видів. У короткоживучих видів, таких як гризуни, тривала гіпергастринемія викликала пухлини, які спочатку класифікувалися як карциноми. Ці пухлини були перекласифіковані як NET, коли механізм і клітинне похо-

дження були визнані. Зовсім нещодавно було повідомлено, що тривале лікування потужними інгібіторами секреції хлоридної кислоти, інгібіторами протонної помпи (ІПП), сприяє розвитку карциноми шлунка також у людей. Оскільки біологічний ефект ІПП полягає в пригніченні секреції хлоридної кислоти і, таким чином, у зниженні кислотності шлунка, є підстави припустити, що канцерогенний ефект ІПП у шлунку також опосередковується гіпергастринемією. Фактично, у родині, де обидва батьки були гетерозиготами щодо місенс-мутації в альфа-субодиниці протонної помпи, гомозиготні нащадки для цієї мутації мали гіпергастринемію та розвивали пухлини шлунка у віці 23 років. Таким чином, гастрин, мабуть, бере участь у більшості випадків раку шлунка, що виникає анально/дистально від кардіальної області, де *H. pylori*, здається, не відіграє жодної ролі [14].

Спосіб, яким гастрин стимулює секрецію кислоти, обговорювався протягом багатьох десятиліть. Зараз, здається, вирішено, що гастрин працює, стимулюючи вивільнення гістаміну з клітин ECL, де локалізований рецептор гастрину (ССКВ). Паралельні позитивні функціональні та трофічні ефекти індують гіперплазію та пухлини різного ступеня злоякісності, що походять з клітини ECL. Проте безперечно, що гастрин впливає на оксинтичну слизову оболонку в цілому, а не лише на ECL-клітину. Загальний трофічний ефект гастрину на оксинтичну слизову оболонку був побічно показаний великими складами, виявленими у пацієнтів із синдромом Золлінгера-Еллісона та експериментально в дослідженнях на тваринах. Чи є трофічний ефект на оксинтну слизову оболонку прямим впливом гастрину на стовбурові клітини, чи є непрямим, опосередкованим вивільненням сигнальних речовин із клітини ECL, ще не з'ясовано. Білок REG I, що вивільняється з клітини ECL при стимуляції гастрином, є фактичним кандидатом на роль посередника. Однак немає ніяких ознак гастринового рецептора на парієтальних клітинах, ані функціонально, ані трофічно [15].

Таким чином, гастрин може бути загальним патогенним фактором для карцином шлунка, що походять із оксинтної слизової оболонки, де є клітини,

які стимулюються агоністом рецептора гастрину. Проте в антральному відділі може бути гастринний рецептор на G-клітині, який, імовірно, є інгібуючим, оскільки щільність G-клітин збільшується у тварин з нокаутом гастрину-холестокініну. Відповідно, важко уявити, що гастрин має сприяти розвитку карциноми зі слизової оболонки антрального відділу. Тим не менш, межа між оксинальною та антральною слизовою оболонкою не є чіткою, оскільки оксинтичні залози також виявляються в слизовій антрального відділу [13].

1.2. Патогенез раку шлунка

Гастрин є центральним у канцерогенезі шлунка, і будучи пептидним гормоном, він може безпосередньо впливати лише на клітини з рецептором гастрину. Гастрин стимулює вивільнення гістаміну та проліферацію клітини ECL. Будь-який стан із довгостроковою гіпергастринемією у тварин, а також людей призводить до злоякісної пухлини шлунка. Прямий канцерогенний вплив *H. pylori* на слизову оболонку шлунка можна виключити, оскільки інфікування лише в антральному відділі, навпаки, захищає від раку шлунка. Крім того, навіть при запаленні слизової оболонки для схильності до раку шлунка необхідно, щоб розвинувся атрофічний гастрит. Якщо знижена кислотність шлунка має сприяти розвитку раку шлунка через вторинні мікробіологічні інфекції, можна було б очікувати, що пухлини повинні розвиватися у всьому шлунку, а не лише в оксинтній слизовій оболонці. Відповідно, сама гіпергастринемія може бути патогенним фактором для розвитку карциноми, вторинної *H. pylori*-інфекції. Якщо так, то єдина встановлена клітина-мішень для гастрину, клітина ECL, повинна відігравати важливу роль у канцерогенезі шлунка. Це питання викликало особливу суперечку, і навіть стверджувалося, що клітина ECL у людини не розмножується, хоча було чітко показано, що ця клітина проліферує у гризунів. Оскільки клітини ECL зустрічаються в кластерах у пацієнтів з гіпергастринемією, було важко зрозуміти небажання визнати, що клітина ECL дійсно ділиться. Пізніше прийнято, що клітина ECL проліферує і дає початок шлунковим

NET. Однак роль клітин ECL у канцерогенезі шлунка загалом заперечується, за винятком карцином NE (NEC) [16].

Серед карцином шлунка дифузного типу, диференціація NE особливо вагітна в підгрупі кільця-печатки. Ці карциноми є PAS-позитивними, але не експресують специфічних маркерів муцину. Примітно, що в класифікації пухлин експерти, здається, більше покладаються на неспецифічні гістохімічні методи, ніж на більш специфічні, такі як імуногістохімія та гібридизація *in situ*. Виходячи з результатів досліджень, здається, що більша частина карцином шлунка дифузного типу може розвинути з клітин ECL внаслідок тривалої гіперстимуляції гастрином. Тим не менш, гастрин і клітина ECL можуть брати участь у пухлиноутворенні карциноми шлунка кишкового типу, оскільки гастрин вивільняє не лише гістамін, але й такий фактор, як REG I, який має стимулюючу дію на проліферацію стовбурових клітин і, таким чином, може сприяти розвитку розвитку карциноми [17].

Цікаво, що Goetze та його співробітники показали, що більшість карцином шлунка, локалізованих у різних частинах шлунка, експресують як гастрин, так і рецептор гастрину, що може вказувати на стимулюючу аутокринну петлю. Водночас Хаякава та його співробітники описали, що антральні стовбурові клітини експресують рецептор гастрину, який може стимулюватися прогастринами, але не амідованими гастринами, і що ця стимуляція відіграє певну роль у канцерогенезі. Однак важко уявити, що той самий рецептор гастрину в деяких місцях повинен мати спорідненість до амідованого гастрину, а не до прогастрину, а в інших клітинних місцях зв'язувати прогастрин, а не амідований гастрин. З біологічної точки зору, рецептор гастрину на антральних клітинах (G-клітинах) повинен бути інгібуючим, а не стимулюючим. У будь-якому випадку, перш ніж можна буде прийняти роль аутокринної стимуляції та прогастринів у канцерогенезі антрального відділу, її необхідно продемонструвати *in vivo* [13].

Крім гастрину, генетичні фактори, звичайно, відіграють важливу роль у канцерогенезі шлунка. Найкращим прикладом цього є мутації в гені E-кадгерину (CDH 1), які, будучи гомозиготними, призводять до карциноми шлунка

дифузного типу в ранньому віці. Ця властивість, разом із паракринними ефектами речовин, що вивільняються, таких як гістамін, може схилити цю клітину до інвазивності та метастазування, центральних факторів карциноми шлунка дифузного типу. Крім того, не існує загальноприйнятого маркера для стовбурових клітин у оксинтній слизовій оболонці. Відповідно, немає експериментального підтвердження загальноприйнятої думки про те, що оксинтичні карциноми шлунка мають походження стовбурових клітин [18].

1.3. Фактори ризику розвитку раку шлунка

РШ є мультифакторним захворюванням, і на його етіологію впливають як екологічні, так і генетичні фактори. Деякі з цих факторів ризику, такі як вік і стать, неможливо змінити, тоді як інші, такі як куріння та інфекція *H. pylori*, потенційно можуть змінитися.

Рівень захворюваності на РШ прогресивно зростає з віком. Серед випадків, діагностованих в Сполучених Штатах, приблизно 1 % випадків відбулися у віці від 20 до 34 років, тоді як 29 % відбулися між 75 і 84 роками. Протягом цього періоду середній вік на момент встановлення діагнозу раку шлунка становив 70 років.

Порівняно з жінками, чоловіки мають вищий ризик розвитку РШ. Причини таких відмінностей не ясні. Певну роль може відігравати вплив навколишнього середовища або професійний вплив. Наприклад, історично чоловіки з більшою ймовірністю курили тютюнові вироби, хоча підвищені показники серед чоловіків, здається, зберігаються навіть у країнах, де чоловіки та жінки мають однакові моделі куріння. Крім того, статеві відмінності можуть відображати фізіологічні відмінності. Естрогени можуть захистити від розвитку раку шлунка. У жінок затримка менопаузи та підвищення фертильності можуть знизити ризик РШ, тоді як антиестрогенні препарати, наприклад, тамоксифен, можуть підвищити частоту раку. Ці гормони можуть забезпечувати захист від РШ протягом періоду фертильності жінок, але їх вплив зменшується після менопаузи [2].

Сіль і консервована з сіллю їжа є фактором ризику раку шлунка. Можливі механізми, за допомогою яких сіль впливає на рак шлунка, включають:

- ✓ вона посилює колонізацію та вірулентність *H. pylori*;
- ✓ *H. pylori* змінює захисну в'язкість слизової, що захищає шлунок, що призводить до впливу канцерогенів, таких як N-нітрозосполуки;
- ✓ викликає запальні реакції шлункового епітелію, що може збільшити проліферацію епітеліальних клітин як частину процесу відновлення та ймовірність ендогенних мутацій.

У недавньому мета-аналізі D'Elia та інші досліджували роль солі в канцерогенезі шлунка шляхом аналізу проспективних досліджень. Показали підвищений ризик раку шлунка у зв'язку зі споживанням маринованих овочів у Східній Азії.

Зелений чай, виготовлений з рослини *Camellia sinensis*, містить активний інгредієнт поліфенол, який має підгрупу, відому як катехіни. Катехіни є потужними антиоксидантами, які можуть пригнічувати проліферацію клітин і запобігати раку. Дані про вплив зеленого чаю на профілактику раку шлунка суперечливі, без чіткої користі. Недавнє японське дослідження, яке проаналізувало об'єднані дані шести когортних досліджень, показало, що у жінок значно знижений ризик дистального раку шлунка. спостерігається у тих, хто вживає більше п'яти чашок зеленого чаю на день (коефіцієнт ризику 0,70, 95%), але такий зв'язок не спостерігався у чоловіків. Таким чином, хоча існують чіткі епідеміологічні зв'язки між харчуванням та раком шлунка, роль дієтичних втручань залишається недоведеною [19].

Взаємозв'язок між рівнем холестеролу в сироватці крові та раком шлунка є суперечливим, оскільки дані контрольних і когортних досліджень суперечливі. Пояснення причинно-наслідкового зв'язку є спекулятивними, особливо тому, що як низький, так і високий рівень холестеролу пов'язані з раком шлунка. Асано та інші провели проспективне популяційне дослідження, щоб вивчити зв'язок між рівнем холестеролу в сироватці крові та захворюваністю на рак шлунка. Було виявлено, що ризик раку шлунка зростає зі зниженням рівня холестеролу, навіть після поправки на інші фактори, що впливають, такі як вік,

стать, *H. pylori*-інфекції, атрофічний гастрит, сімейний анамнез злоякісних новоутворень, звички куріння, індекс маси тіла і дієтичні фактори. Цей зв'язок був значущим для раку шлунка кишкового типу, але не для дифузного типу [20].

В іншому дослідженні Ikeda та ін. оцінювався вплив рівня гемоглобіну A1c (HbA1c) на виникнення раку шлунка та їх взаємодія з інфекцією *H. pylori*. Було виявлено, що захворюваність на рак шлунка з поправкою на вік і стать значно зростала, коли HbA1c був вищим за 6, навіть після поправки на фактори, що змішують, включаючи серопозитивність *H. pylori*. Крім того, цей ризик ще більше збільшувався за наявності інфекції *H. pylori*. (62) Точна патогенетична роль гіперглікемії в канцерогенезі шлунка невідома, але передбачувані механізми включають підвищене продукування активних форм кисню та більше окислювальне пошкодження ДНК, а також вплив гіперінсулінемії на клітинну проліферацію.

Недавнє корейське дослідження «випадок-контроль» продемонструвало зв'язок між метаболічним синдромом і раком шлунка. Багатофакторний аналіз показав, що рівень глюкози натщесерце, загальний холестерол, холестерол ЛПНЩ і метаболічний синдром мали статистично значущий зв'язок із дисплазією шлунка [21].

Ожиріння є основним фактором ризику розвитку аденокарциноми шлунка. Точний патологічний механізм ще не з'ясований, і передбачувані механізми включають підвищений ризик езофагеального рефлюксу, резистентність до інсуліну, рівні адипонектину та лептину, інсуліноподібні фактори росту, статеві стероїди та глюкокортикоїди, маркери запалення, пов'язані з ожирінням, та окислювальний стрес [19].

1.4. Біомаркери раку шлунка

Сироваткові онкомаркери шлунка використовувалися для діагностики, визначення клінічної стадії, оцінки відповіді на лікування та скринінгу на рецидиви після успішної терапії.

Хоча багато біомаркерів раку шлунка, включаючи вуглеводний антиген 72-4 (CA 72-4), альфа-фетопротеїн (AFP), вуглеводний антиген 125 (CA 125), β -субодиниця хоріонічного гонадотропіну людини (β -ХГЛ) і пепсиноген I/II, карциноембріональний антиген (CEA) і вуглеводний антиген 19-9 (CA 19-9) все ще є найбільш часто використовуваними біомаркерами в клінічній практиці раку шлунка [22].

Карциноембріональний антиген (CEA)

CEA є глікопротеїновим онкофетальним антигеном, який експресується в багатьох епітеліальних пухлинах. Це закріплений на клітинній поверхні білок, який бере участь у міжклітинних адгезіях, і він є функціональним рецептором для лігандів E-селектину колоректального раку та L-селектину, які можуть бути критичними для метастатичного поширення клітин раку товстої кишки. У клінічній практиці при раку шлунково-кишкового тракту CEA є найбільш часто використовуваним маркером. CEA в основному використовується як біомаркер для моніторингу лікування колоректального раку та для виявлення рецидивів після хірургічної резекції. Концентрація CEA також може збільшуватися при інших типах раку та при деяких неракових захворюваннях. CEA відомий як незалежний фактор ризику прогностичного рецидиву метастазів у печінці. Високі рівні карциноембріонального антигену виявляються на пізній стадії РШ у значної частини всіх пацієнтів; отже, рівень цього маркера не є ефективним методом скринінгу. Вимірювання мРНК CEA за допомогою полімеразної ланцюгової реакції зворотної транскрипції (RT-PCR) може бути використане для виявлення мікрометастазів у черевній порожнині [6].

Вуглеводний антиген 19-9

CA19-9 – це гліколіпідний антиген, який був ідентифікований при колоректальному раку, і він є лігандом для E-селектину, який експресується на поверхні ендотеліальних клітин. CA19-9 є широко використовуваним маркером колоректального раку; однак це трапляється при багатьох видах раку, зокрема раку шлунка та підшлункової залози. CA19-9-позитивні пацієнти з раком шлу-

нка показали чіткі клініко-патологічні особливості, такі як антральна локалізація, прогресивний ступінь, диференційована гістологія та вищий відсоток метастазів у лімфатичних вузлах. Одне з досліджень продемонструвало, що специфічність рецидиву СА19-9 становила 74%, з чутливістю 56%. Було виявлено, що чутливість зросла до 87%, коли СА19-9 комбінували з СЕА [23].

Вуглеводний антиген 72-4

Вуглеводний антиген 72-4 є муциноподібним глікопротеїном, присутнім на поверхні різних пухлинних клітин. Аналіз СА72.4-Аб показує хорошу специфічність для раку шлунка, і його використовують для спостереження після лікування та для виявлення рецидивів РШ. Незважаючи на те, що СА72-4 часто демонструє вищу чутливість і точність порівняно з СЕА, не було проведено багато досліджень раннього виявлення СА72-4 або прогностичного скринінгу [24].

Інші класичні онкомаркери

Біомаркери пухлини, такі як АФП, β -субодиниця хоріонічного гонадотропіну людини (β -ХГЧ), СА125 та 19 фрагмент субодиниці цитокератину (Cyfra21.1) широко використовуються для діагностики раку шлунка. Проте прогностичне значення цих маркерів для раннього раку шлунка ще не досліджено. Ці пухлинні маркери не є оптимальними для скринінгу раку шлунка через їх низьку чутливість і специфічність [25].

Карцинома шлунка, що продукує альфа-фетопротейн (AFP_{GC}), є рідкісним типом раку шлунка з високою злоякісністю та поганим прогнозом, що відрізняє його від інших типів раку шлунка. AFP_{GC} відноситься до сироваткової та ракової тканини шлунка, що містить велику кількість АФР, за винятком інших можливих захворювань (гепатоцелюлярна карцинома, активне захворювання печінки, пухлини сечостатевої системи), які можуть продукувати АФР. Таким чином, лікарям рекомендується регулярно досліджувати рівень сироваткового АФП у хворих на рак шлунка, особливо у пацієнтів з метастазами в печінці, тоді як патологічні зразки рутинної імуногістохімії АФП можуть значно покращити швидкість виявлення РШ [22].

Сироватковий рівень СА125 перед лікуванням є корисним прогностичним біомаркером у пацієнтів з неоперабельним прогресуючим або рецидивуючим раком шлунка. Вважається, що рівень СА125 суттєво пов'язаний з появою перитонеальної дисемінації при РШ. У пацієнтів, яким була проведена лікувальна операція, позитивний результат СА125 може служити предиктором перитонеальної дисемінації. СА125 може бути важливим біомаркером для оцінки результатів пацієнтів і більш точного прогнозування не тільки для пацієнтів, які перенесли лікувальну операцію з приводу раку шлунка, але також для пацієнтів з неоперабельним прогресуючим або рецидивуючим раком шлунка, які лікувалися системною хіміотерапією, особливо якщо він використовується з іншими онкомаркерами [26].

Специфічність і чутливість біомаркерів крові, які зараз застосовуються для виявлення раку шлунка, таких як карциноембріональний антиген, вуглеводний антиген 19-9 і вуглеводний антиген 72-4, є несприятливими. Більш високі рівні чутливості та специфічності можна отримати при спільному тестуванні кількох маркерів. Встановлено, що комбінація сироваткового СЕА та СА19–9 забезпечує вищу специфічність, ніж сироватковий СЕА окремо. Крім того, повідомлялося, що комбінація СЕА, СА125 і СА19-9 досягає вищої чутливості, ніж СЕА окремо.

1.5. Неінвазивні біомаркери раку шлунка

Основною проблемою для діагностики, лікування та спостереження за солідними раками є необхідність часто отримувати відповідний об'єм пухлини, а похідні пухлини не повністю відображають характер загальної пухлини. «Рідка біопсія» — це в принципі зразок будь-якої рідини організму, яка може містити генетичний матеріал пухлини, наприклад крові, сечі, слини або спинномозкової рідини. Прогрес у галузі рідкої біопсії може вирішити проблеми з біопсією тканин шляхом використання рідин організму для дослідження біомаркерів захворювання. Серед варіантів рідкої біопсії зразки крові є найбільш широко дослідженими. Зразки периферичної крові хворих на рак

містять циркулюючі пухлинні клітини (ЦПК), безклітинну ДНК, мікроРНК, безклітинну РНК і клітинні везикули, такі як екзосоми [6].

Циркулюючі пухлинні клітини (ЦПК) — це клітини, що вивільняються з первинної пухлини в судинну систему і циркулюють у кровотоці. Клітини можуть бути звільнені з початкової пухлини та/або відповідних віддалених метастатичних сайтів. Як правило, ЦПК, вивільнені в кровообіг, мають короткий термін життя, і лише кілька високоактивних пухлинних клітин з високим метастатичним потенціалом виживають у кровообігу. Захоплення циркулюючих пухлинних клітин забезпечує доступ у реальному часі до неопластичних тканин без необхідності інвазивної біопсії, а їх фенотипове та молекулярне дослідження може дати уявлення про біологічні зміни в пухлині, що відбуваються під час лікування. Циркулюючі пухлинні клітини також можуть відігравати ключову роль у моніторингу поширення РШ та лікуванні пацієнтів із рецидивом та метастатичним раком шлунка [22].

Циркулююча безклітинна ДНК (cfDNA) — це позаклітинна позаклітинна ДНК, що походить із нормальних і ракових клітин, ідентичних у крові (плазмі чи сироватці). Фракція безклітинної ДНК, яка походить від первинних пухлин, метастазів або ЦПК, називається ctDNA. В даний час корисність ctDNA в лікуванні раку є найбільш широко вивченим питанням у дослідженнях cfDNA. Порівняно з обмеженнями звичайної біопсії, яка призводить до значної травми та створює невеликий розмір зразка, виявлення ctDNA демонструє кілька переваг, включаючи зручне взяття зразків, мінімальну інвазивність і високу повторюваність. Крім того, було показано, що ctDNA більш чутлива, ніж ЦПК. Потенційні діагностичні та/або прогностичні значення кількісного визначення cf-ДНК у пацієнтів з РШ порівняно зі здоровими контрольними групами оцінювалися в різних дослідженнях [27].

Циркулююча вільна мікроРНК. МіРНК складається з 20-24 нуклеотидів. Вони являють собою клас некодуєчих одноланцюгових РНК малої молекули і мають високочасові, консервативні та тканинспецифічні характерис-

тики. Вони поширені в еукаріотах і регулюють клітинну диференціацію, проліферацію та апоптоз. Роль мікроРНК у прогресії та розвитку ракових клітин ґрунтується на процесах диференціювання, модуляції росту та апоптозу. Один тип мікроРНК може регулювати багатоцільову експресію генів і багато шляхів, що впливають на процес розвитку раку. Таким чином, мікроРНК є набагато ефективнішими, ніж молекули, що кодують гени, як молекули біологічної регуляції. Численні дослідники аналізували мікроРНК сироватки раку шлунка як прогностичні та діагностичні показники. МіРНК можуть вивільнятися з неопластичних тканин у рідині організму, не лише в сироватку та плазму, але також у шлунковий сік, сльози, сечу та амніотичну рідину шляхом секреції частинок екзосом.

Як правило, віддалені метастази часто призводять до прогресуючого раку та скорочують виживання. Тому було показано, що *oncomiR-10b*, *miR-21* і *miR-212* у пацієнтів з раком шлунка пов'язані з високим ризиком метастазування та поганими клінічними результатами, включаючи розмір пухлини, метастази в лімфатичних вузлах, стадію та п'ятирічний період виживаність [22].

Екзосоми, маленькі клітинні везикули, можуть захищати РНК і мікроРНК від деградації. Коли екзосоми піддавалися впливу РНКаз, РНК, що містилися, були захищені від деградації, тоді як клітинна РНК розкладалася тією ж РНКазою. Екзосоми мають великий потенціал як для діагностики, так і для прогнозування захворювань і є надзвичайно корисними як біомаркери раку. *miR-19b* і *miR-106a*, ідентифіковані в екзосомах, що циркулюють у сироватці крові, значно надмірно експресуються в осіб із РШ порівняно зі здоровими особами контролю. Крім того, підтверджені мікроРНК корелювали з лімфатичними метастазами та експресувалися на вищих рівнях на стадіях III і IV порівняно з стадіями I і II при РШ [129]. Подібним чином підвищена експресія екзосомальних *miR-21* і *miR-1225-5p*, ізольованої перитонеальної промивної рідини, була виявлена у пацієнтів із T4 стадією раку порівняно з пацієнтами зі стадією T1-T3. Ці знахідки свідчать про те, що екзосоми можуть служити новими діагностичними та терапевтичними біомаркерами для РШ [28].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти та матеріали досліджень

У роботі опрацьовано та здійснено аналіз виписок з історій хвороб пацієнтів із діагнозом аденокарцином шлунка III–IV стадії (T2N1M0–T4N2M1), які знаходилися на лікуванні в Siedleckie centrum onkologii Mazowiecki Szpital Wojewodzki im. sw. Iana Pawla II w Siedlcach Sp. z.o.o.

Вік пацієнтів коливався в межах від 20 до 75 років (середній вік обстежених складав 64 ± 6 років).

Усім пацієнтам здійснювали загальноприйнятні обстеження, які включали збір скарг, опис анамнезу, оцінку клінічних симптомів, лабораторно-інструментальне обстеження.

Водночас здійснювали ендоскопічне дослідження стравоходу, шлунка і дванадцятипалої кишки, що давало можливість оцінити морфологічні та функціональні зміни слизової оболонки гастродуоденальної зони, наявність ендоскопічних ознак запалення, ерозій, атрофії, виразок.

Обов'язковою процедурою була прицільна біопсія з антрального відділу, тіла шлунка для верифікації діагнозу неопластичних змін.

Для обговорення результатів клініко-лабораторних аналізів та біомаркерів диференційної діагностики раку шлунка пацієнти з діагнозом аденокарцином шлунка були розділені на групи:

- ✓ I група – пацієнти з кишковим типом раку шлунка (n = 24),
- ✓ II група – пацієнти з дифузним типом раку шлунка (n = 36).

Серед проаналізованих клініко-лабораторних показників до уваги брали вміст гемоглобіну, рівень гастрину-17 та біомаркерів – СЕА та СА 72-4.

2.2. Визначення концентрації загального гемоглобіну

Для визначення концентрації Hb використовували гематологічний аналізатор Beckman Coulter (США) і HemoCue (США), а також нещодавно розроблений Haemospect® (MBR Optical Systems GmbH & Co; Німеччина) [29].

Апарат Наemospect® складається з пристрою Наemospect® і датчика розміщення в затиску, який одягається на середній палець. Є два типи кліпів – сірий в розмірі S і чорний в розмірі L. Прилад також оснащений модулем Reflector, використовується для калібрування камери.

Вимірювання проводять спектроскопічним методом. При вимірюванні пучок світла спрямовується на шкіру і проникає в тканини. Світловий промінь, який відбивається, містить інформацію про кількість гемоглобіну в крові. Оцінка отриманих значень проводиться програмним забезпеченням камери. Відображення результату у г/дл, г/л або ммоль/л.

Пристрій запускають за 15 хвилин до початку вимірювань для стабілізації системи, а потім проводять його калібрування.

2.3. Визначення вмісту гастрину-17

Концентрацію гастрину вимірюють у крові, взятій з ліктьової вени. Найголовніше, щоб пацієнт був натщесерце, тобто не менше 6-8 годин після прийому їжі. Вимірювання проводиться в кількох зразках крові, взятих один за одним (поспідовні дні) у спеціальні пробірки.

Час очікування результатів – один-два дні.

Норма 50-80 нг/л.

Вміст гастрину-17 визначали методом хемілюмінесцентного імуноаналізу відповідно до інструкції виробника. Для цього використовували набір GastroPanel ВІОНІТ (Фінляндія) [30].

2.4. Оцінка рівня раково-ембріонального антигену (СЕА)

Раково-ембріональний антиген є глікопротеїном. Хоча СЕА можна виявити на перших 6 місяцях розвитку плода в кишечнику, печінці та підшлунковій залозі, його біологічна роль у розвитку плода неясна. Невеликою мірою синтезується СЕА в слизовій оболонці товстого кишечника, легенів, селезінці, печінці дорослої людини. Збільшення вмісту СЕА в крові може відзначатись

при ракових формах захворювання різної локалізації та деяких хронічних запальних процесах [31].

Показання:

- ✓ раннє визначення рецидивів колоректальної аденокарциноми,
- ✓ контроль за лікуванням метастазованого раку молочної залози,
- ✓ виявлення метастазів раку легенів та кісток.

Специфічність та чутливість СЕА у діагностиці пухлин досить низька. Існує кореляція між високими преоперативними значеннями СЕА та підвищеним ризиком рецидивування, а також метастазування.

Метод аналізу: Хемілюмінісцентний метод.

Злоякісні пухлини

Колоректальна карцинома 80%

Карцинома підшлункової залози 60%

Карцинома молочної залози 40%

Карцинома легені 45%

Карцинома жовчних шляхів 50%

Карцинома шлунка 50%

Карцинома стравоходу 40%

Карцинома матки 35%

Оваріальна карцинома 25%

Інші захворювання

Цироз печінки 30%

Гемодіаліз 30%

Поліпоз кишківника 15%

Гепатит 15%

Легенева хвороба 15%

Гемороїди 12%

Панкреатит 10%

Захворювання нирок 10%

Виразкова хвороба 5%.

2.5. Визначення рівня онкомаркера СА 72-4

СА 72-4 – високомолекулярний глікопротеїн, компонент поверхні епітелію. Цей білок експресується найрізноманітнішими карциномами – товстого кишечника, легень, яєчників, ендометрію, підшлункової залози, шлунка, молочних залоз. СА 72-4 використовують переважно в комбінації з СЕА або СА-19-9 – з метою контролю та терапії раку шлунка, або разом з СА-125 – з метою моніторингу раку яєчників [32].

У пацієнтів, які отримують лікування високими дозами біотину (> 5 мг/день), слід брати проби не раніше ніж через 8 годин після останнього введення біотину. У поодиноких випадках можлива інтерференція через надзвичайно високий титр антитіл до аналіт-специфічних антитіл. Склад тест-системи дозволяє мінімізувати ці ефекти.

Матеріал: забір сироватки повинен проводитися з використанням стандартних пробірок для зразків або за допомогою пробірок з гелем, що розділяє. Li-, Na-, NH-гепарин та K₃-ЕДТА плазма.

Стабільність проби: 7 днів при температурі 2-8 °С та один місяць при температурі -20 °С. Заморожувати лише один раз.

Метод: електрохемілюмінесцентний.

Аналізатор: Cobas e411.

Тест-система: СА-72-4 Roche Diagnostics (Німеччина).

Референсні значення (норма): 0-6,9 Од/мл.

Статистичний аналіз даних проводили, дотримуючись принципів статистичного аналізу, які використовуються в медико-біологічних дослідженнях. Усі показники наведені в їх середньому значенні з середньою квадратичною помилкою ($M \pm m$), де M – середнє арифметичне вибірки, m – стандартне відхилення. Для опрацювання результатів використовували методи варіаційного аналізу з визначенням достовірності відмінностей за критерієм Стюдента.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ранні стадії раку шлунка зазвичай протікають безсимптомно або супроводжуються неспецифічними симптомами, такими як диспепсія. Запущені стадії можуть супроводжуватися постійним болем у животі, анорексією та втратою ваги. Постійне блювання може бути ознакою стенозу пілоричного відділу. Відсутність специфічних симптомів може призвести до запізнілої діагностики. Тому приблизно у 80 % пацієнтів діагноз діагностується на пізніх стадіях.

Аденокарциноми демонструють агресивну поведінку, вражаючи стінки шлунка та стравоходу та метастазуючи в місцеві лімфатичні вузли. Ступінь інвазії диктує класифікацію раку шлунка як раннього або прогресуючого. Ранні раки обмежені слизовою і підслизовою оболонкою, незалежно від метастазів у лімфатичних вузлах. За межами цих шарів пухлини класифікуються як запущені. П'ятирічна виживаність становить від 85% до 100% для ранніх форм раку та від 5% до 20% для прогресуючих форм раку [9].

Найбільш часто використовуваною класифікацією є класифікація Лорена, яка розрізняє 2 типи: кишковий (з міжклітинними з'єднаннями) і дифузний (без міжклітинних з'єднань), що представляють 2 різні нозологічні утворення. Обидва типи пов'язані з інфекцією *H. pylori*.

Аденокарцинома кишкового типу названа так тому, що вона утворює залози або каналці, вистелені епітелієм, що нагадує слизову оболонку кишечника. Це найпоширеніший тип, який зустрічається у всіх популяціях із високою захворюваністю, і за останні десятиліття його захворюваність знизилася. Він демонструє згуртованість пухлинних клітин.

Клітини дифузної карциноми не мають згуртованості та проникають у тканини самостійно або невеликими скупченнями. Перстнеподібні кільцеві карциноми класифікуються як дифузні. Їх пухлинні клітини містять велику кількість цитоплазматичного муцину, який зміщує ядро до периферії. Деякі класи-

фікації включають термін колоїдні карциноми для пухлин із надмірною секрецією слизу, внутрішньоклітинних та/або позаклітинних. Незначна частка пухлин є змішаними, з кишковим і дифузним компонентами [33].

Клінічний аналіз крові – один із лабораторних методів діагностики різноманітних захворювань, зокрема, й онкологічного спрямування. Він дає можливість виявити зміни складу компонентного складу крові та своєчасно почати корекцію порушень.

Серед досліджуваних показників крові одним з найважливіших є гемоглобін – білок еритроцитів, який відповідає за транспорт кисню з легень в усі тканини. Якщо показники гемоглобіну при онкології знижуються, органи починають відчувати гіпоксію – кисневе голодування. Причини зниження гемоглобіну бувають різними, одна з них – онкологічне захворювання та побічні ефекти хіміопрепаратів. Так, у нормі вміст гемоглобіну у чоловіків варіює в межах 130-160 г/л. Недостатній рівень гемоглобіну виявляється у 70 % онкологічних пацієнтів [34].

Показники гемоглобіну нижче 115 г/л вже потребують корекції. Легка анемія (до 100 г/л) не становить серйозної небезпеки, але може посилитись, якщо її не лікувати. Небезпечним вважається рівень гемоглобіну нижче 70 г/л.

Аналіз результатів досліджень вказує на те, що, що в групі хворих із кишковим типом раку шлунка вміст гемоглобіну знижується до 78 г/л, а в онкохворих із дифузним типом раку шлунка – до 62 г/л (рис. 3.1).

Найпоширеніший тип анемії – залізодефіцитна анемія. Назва говорить сама за себе – дефіцит заліза через недоїдання чи порушення його всмоктування. Як наслідок – знижений гемоглобін та зниження кількості еритроцитів.

Зниження гемоглобіну в онкології може відбуватися з різних причин. Серед основних можна виділити такі:

- ✓ нестача заліза. Залізо – важливий компонент гемоглобіну, саме за рахунок нього відбувається приєднання та перенесення кисню;
- ✓ кровотеча з пухлини, що розпадається;

- ✓ гемоліз – прискорене руйнування еритроцитів внаслідок отруєння організму речовинами, що виділяють у кров ракові клітини;
- ✓ гіперспленізм – збільшення селезінки. У нормі цей орган «сортуює» клітини крові, відокремлює старі та «хворі» від здорових та видаляє їх. При гіперспленізмі селезінка починає дуже швидко видаляти еритроцити з кровотоку;
- ✓ синдром анемії хронічного захворювання – стан, при якому активуються цитокіни. Вони пригнічують вироблення еритропоєтину (гормон, який стимулює кровотворення), утворення нових еритроцитів, порушують обмін заліза.
- ✓ руйнування еритроцитів та клітин-попередників після хімії та променевої терапії [35].

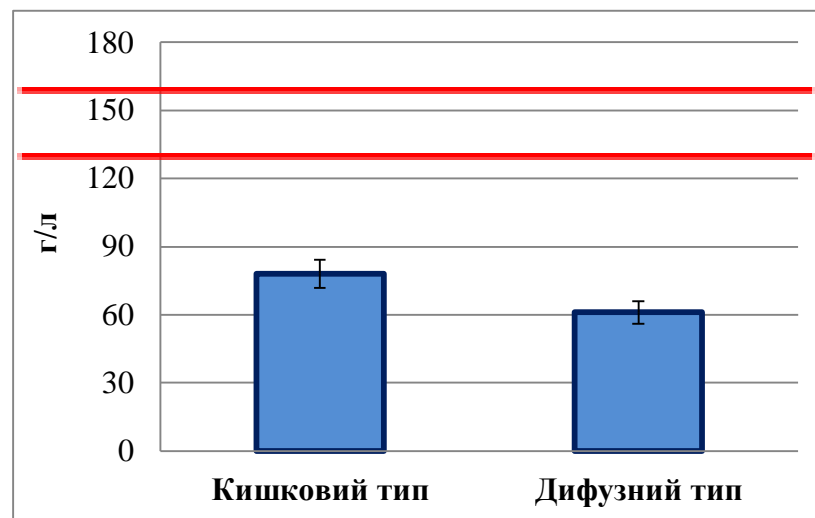


Рис. 3.1. Вміст гемоглобіну в крові хворих на рак шлунка

Отже, розвиток злоякісного новоутворення шлунка супроводжується вираженою анемією, що характеризується максимально низькими значеннями вмісту гемоглобіну за умов перебігу дифузного типу раку, ніж при кишковій формі даного захворювання.

Перш ніж рак стане клінічно очевидним, має місце тривалий передраковий процес із чітко визначеними послідовними стадіями: хронічний активний

гастрит → хронічний атрофічний гастрит → кишкова метаплазія, спочатку повна або тонкокишкова метаплазія, а потім неповна або товстокишкова → дисплазія (також звана інтраепітеліальною неоплазією) і, нарешті, інвазивна карцинома. Процес ініціюється та підтримується інфекцією *H. pylori*. Хоча бактеріальні колонії залишаються в просвіті шлунка, вони викликають запальний процес у слизовій оболонці шлунка, який зазвичай триває десятиліттями та може призвести до втрати залози (атрофії). Процес багатоголищевий і спочатку виявляється в кутовій різці, а з часом поширюється на передню і задню стінки шлунка. Згодом шлунковий епітелій заміщується клітинами з кишковим фенотипом (кишкова метаплазія). Метапластичні клітини спочатку демонструють повний фенотип тонкого кишечника, але з часом вони мають тенденцію до розвитку фокальних ділянок фенотипу товстого кишечника (неповного або товстого). Повні метапластичні клітини – це еозинофільні поглинальні ентероцити з добре розвиненою щітковою облямівкою, що чергується з добре розвиненими келихоподібними клітинами; метапластичні клітини товстої кишки позбавлені щіткової облямівки та мають численні неправильні внутрішньоцитоплазматичні слизові вакуолі. Дисплазія спочатку має низький ступінь, а пізніше розвиваються вогнища високого ступеня зі збільшенням ступеня ядерного поліморфізму та неправильної архітектури, що підвищує ризик раку [9].

З літератури [36] відомо, що гастрит, викликаний *Helicobacter pylori*, вважається основною причиною раку шлунка, але лише після індукованої оксидативної атрофії, яка зменшує секрецію шлункової кислоти та, таким чином, викликає зниження кислотності, що призводить до гіпергастринемії.

Гастрин-17 (G-17) – пептидний гормон, який синтезується в G-клітинах антрального відділу шлунка, стимулює секрецію хлоридної кислоти. Таким чином, його рівні визначаються функцією антрального відділу шлунка, а також кислотою, що виробляється з парієтальних клітин шлунка. Інтерпретація рівнів G-17 по відношенню до раку шлунка не є простою. Коли атрофія відбувається переважно в тілі, але антральний відділ відносно неушкоджений, нижчі рівні кислоти, що виробляються в тілі, підвищують рівні G-17. Однак,

коли атрофія спостерігається як у антральному відділі, так і в тілі, рівень G-17 може бути нормальним або низьким.

Аналізуючи отримані результати аналізів щодо рівня гастрину-17 в сироватці крові онкохворих, нами відзначено підвищення даного показника за умов як кишкового, так і дифузного типу раку шлунка (рис. 3.2). Слід відмітити, що даний показник в 5 разів перевищував значення верхньої межі норми при кишковому типі раку шлунка та 7 разів – при дифузному типі.

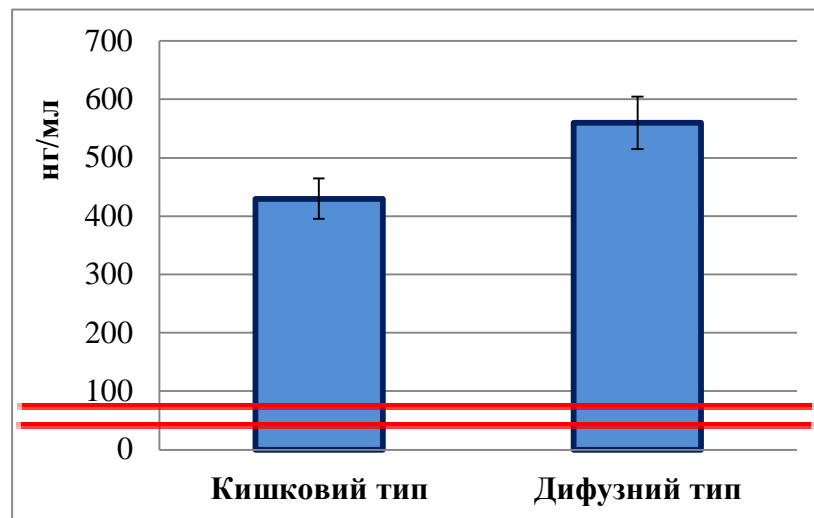


Рис. 3.2. Вміст гастрину-17 в сироватці крові хворих на рак шлунка

Гастрин, який є агоністом для індукції секреції шлункової кислоти, бере участь у багатьох важливих клітинних процесах у шлунковому епітелії. На рівень гастрину впливає багато факторів, таких як атрофічний гастрит, інфекція *H. pylori* та пригнічення кислотності. Тому його розглядають як точний функціональний маркер стану слизової оболонки шлунка. Нещодавно деякі дослідники виявили, що гіпергастринемія, особливо та, що супроводжується хронічною інфекцією *H. pylori*, може бути пов'язана з розвитком РШ.

Гастрин існує в трьох основних формах, в залежності від кількості його складових (амінокислот) розрізняють: гастрин 34 (g34), гастрин 17 (g17) і гастрин 14 (g14). Основними циркулюючими формами є гастрин-17 і гастрин-34

(що складаються відповідно з 17 і 34 амінокислот). У слизовій оболонці шлунка антрального відділу гастрин представлений на 90 % у вигляді g17 (g34 в основному утворюється в тонкому кишечнику) [37].

Таким чином, у хворих на рак шлунка спостерігається виникнення гіпергастринемії, що супроводжується зростанням вмісту гастрину-17 в сироватці крові незалежно від типу неопластичних змін – кишкового чи дифузного.

Рання діагностика та своєчасне лікування є найефективнішими методами покращення прогнозу. Сироваткові онкомаркери часто використовуються для діагностики, оцінки ефекту лікування та моніторингу захворювання пухлин. На жаль, оптимальний сироватковий онкомаркер для своєчасного виявлення РШ залишається на стадії дослідження. Нещодавно кілька досліджень показали корисність сироваткових пухлинних маркерів (таких як СЕА, СА12-5 і СА19-9) у діагностиці РШ, і деякі дослідники виявили, що гастрин-17 тісно пов'язаний з ними [37].

СЕА – це онкофетальний білок, пов'язаний із клітинною адгезією та інгібуванням апоптозу, основним клінічним застосуванням якого є колоректальний рак. Досі рекомендовано використання СЕА лише для визначення прогнозу, спостереження після лікувальної резекції та моніторингу лікування.

Нами відмічено, що в обох групах онкохворих відбувається підвищення рівня раково-ембріонального антигену (рис. 3.3).

У літературі [38] зазначається, що «раково-ембріональний антиген (СЕА) – це глікопротеїн. Його рівень підвищується у разі розвитку різних видів раку. Він секретується в процесі ембріогенезу, тому його рівень може бути підвищений у плода, що є нормальним явищем. При цьому у вагітної його значення має залишатися в межах нормальних значень. Відразу після народження вироблення СЕА скорочується, і під час аналізу крові чи інших рідин не визначається, чи трохи перевищує норму. В організмі дорослої людини СЕА секретується в епітеліальних клітинах ШКТ. При розвитку раку їх продукують ракові клітини».

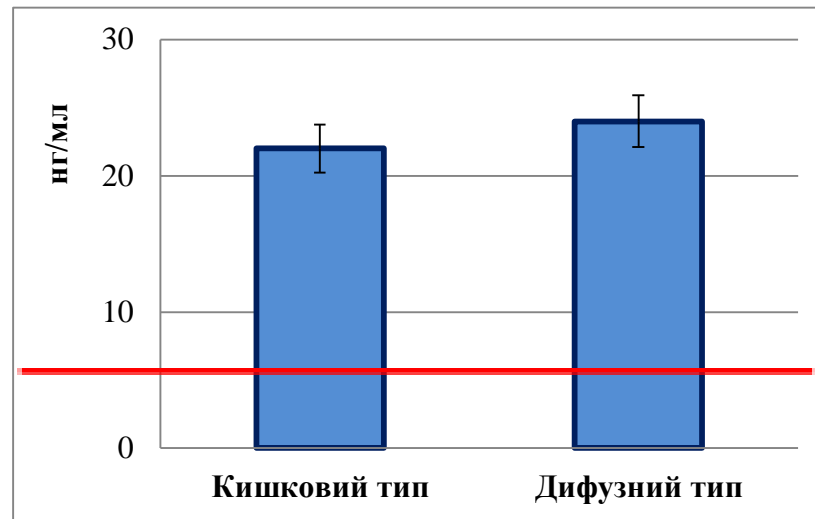


Рис. 3.3. Рівень СЕА в сироватці крові хворих на рак шлунка

СЕА є найбільш поширеним і часто використовуваним маркером у клінічній практиці при раку травного тракту. СЕА відомий як незалежний фактор ризику прогностичного рецидиву метастазів у печінці. Підвищені рівні СЕА виявляються на пізніх стадіях РШ; тому рівні СЕА не є ефективним методом скринінгу. Вважається, що рівні СЕА в перитонеальному лаважі точно передбачають рецидив очеревини після лікувальної резекції РШ. Додавання імуногістохімічного вимірювання СЕА до звичайної цитології призвело до підвищення чутливості. Вимірювання мРНК СЕА за допомогою RT-PCR є корисним для виявлення мікрометастазів у черевній порожнині [38].

Онкомаркер визначається як біохімічний індикатор, який зазвичай виявляється в аномальній концентрації при наявності пухлини. Оскільки онкомаркери можуть бути різними речовинами, які виробляються самою пухлиною або нормальною тканиною господаря у відповідь на пухлинні клітини, онкомаркери можуть бути знайдені в тканинах, крові, слині, сечі та інші рідини організму. Ідеальний пухлинний маркер повинен мати високу чутливість і специфічність, високу позитивну і негативну прогностичну цінність, бути неінвазивним і підтвердженим у великих проспективних дослідженнях. На жаль, такого онкомаркера досі немає.

Науковці досі шукають ідеальний онкомаркер для РШ, але вуглеводний антиген (СА 19-9), карциноембріональний антиген (СЕА) і СА 72-4 можуть мати значення для діагностики та моніторингу лікування цієї смертельної злоякісної пухлини. Накопичені дані показують, що ці маркери є зручними інструментами для моніторингу рецидивів і віддалених метастазів, а також для оцінки ефективності хіміотерапії та прогнозу при РШ.

Незважаючи на безліч маркерів, які були ідентифіковані, СА 72-4 представляє особливий інтерес. Численні дослідження підкреслили клінічне значення серологічного маркера СА 72-4 з точки зору лікування пацієнтів із раком шлунка та гінекологічними захворюваннями. Деякі попередні дослідження показали, що присутність СА 72-4 у сироватці крові була виявлена у 40% пацієнтів із шлунково-кишковою аденокарциномою, тоді як наступні звіти були зосереджені на вивченні потенційних кореляцій між СА 72-4 та іншими маркерами, такими як СЕА та СА 19-9 [39].

Нами відмічено, що рівень СА 72-4 перевищує значення референтних меж норми в обох групах онкохворих (рис. 3.4). Проте, як видно з даного рисунку за умов розвитку кишкового типу раку шлунка даний показник значно вищий, ніж при перебізі дифузного типу онкологічного захворювання (рис. 3.4).

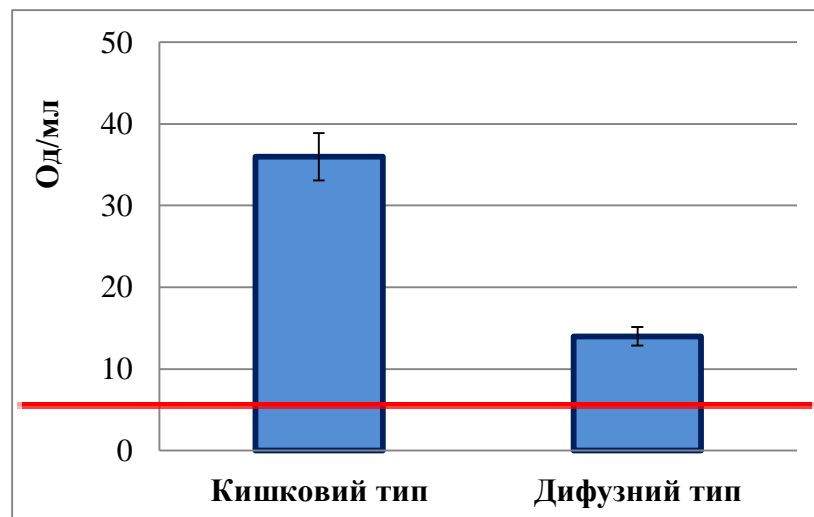


Рис. 3.4. Рівень СА 72-4 в сироватці крові хворих на рак шлунка

СА 72-4, вперше описаний Колчером у 1981 році, є муциноподібним білком з високою молекулярною вагою, який був позначений як пухлинно-асоційований глікопротеїн-72 (TAG-72) антиген. Антиген TAG-72 був визначений як антиген онкофетальної панкарциноми, оскільки TAG-72 був виявлений у різних епітеліальних ракових пухлинах і в товстій кишці, шлунку та стравоході плода, тоді як експресія TAG-72 не спостерігалася в нормальних тканинах дорослих.

Італійське довгострокове дослідження за участю понад 160 пацієнтів підкреслило важливість моніторингу рівня СА 72-4 у сироватці крові при раку шлунка. Дослідження показало, що СА 72-4 є незалежним маркером, який можна використовувати для прогнозу та оцінки рецидивів раку шлунка. Результати показали, що майже половина пацієнтів з рецидивом раку шлунка мали підвищені рівні СА 72-4 у сироватці крові до хірургічного втручання, у порівнянні з приблизно 24 відсотками пацієнтів без рецидиву. Ці результати показують, що моніторинг рівнів СА 72-4 може бути цінним для виявлення ранніх ознак рецидиву в пацієнтів з раком шлунка. Одне французьке дослідження показало, що сироваткові рівні СА 72-4 були пов'язані з поганим прогнозом у пацієнтів чоловічої статі з раком шлунка, навіть якщо їхні рівні СА 19-9 і СЕА були в межах норми до початку лікування [40].

Використання сироваткового маркера СА 72-4 на додаток до СЕА, може допомогти в діагностиці та моніторингу прогресуючого раку шлунка, особливо у випадках, коли рівні СЕА не визначаються. Одночасне вимірювання цих маркерів може підвищити точність таких варіантів лікування, як хіміотерапія або хірургія другого ока. Хоча ці маркери не є корисними для скринінгу раннього раку шлунка, вони важливі для виявлення рецидивуючих метастазів і для посттерапевтичного спостереження.

Комбіноване вимірювання СЕА та СА 72-4 у пацієнтів з РШ може підвищити їх чутливість. Регулярне вимірювання сироваткових рівнів СЕА і СА 72-4 через належні проміжки часу, ймовірно, підвищить специфічність. Необхідні великі проспективні дослідження для підтвердження клінічної значущості сироваткових СЕА та СА 72-4 при раку шлунка.

ВИСНОВКИ

1. Розвиток злоякісного новоутворення шлунка супроводжується вираженою анемією, що характеризується максимально низькими значеннями вмісту гемоглобіну за умов перебігу дифузного типу раку, ніж при кишковій формі даного захворювання.
2. У хворих на рак шлунка спостерігається виникнення гіпергастринемії, що супроводжується зростанням вмісту гастрину-17 в сироватці крові незалежно від типу неопластичних змін – кишкового чи дифузного.
3. Поєднання визначення онкомаркера СА72-4 з біомаркером СЕА може бути перспективним підходом для діагностики кишкового та дифузного типів раку шлунка та корисним орієнтиром для стратегічного планування індивідуального лікування.

