

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

URŠKA LOGAR

DIPLOMSKA NALOGA

Visokošolski strokovni program
laboratorijske biomedicine

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

URŠKA LOGAR

**DELEŽ OKUŽBE S HELICOBACTER PYLORI PRI
BOLNIKI S KARCINOMOM ŽELODCA**

**PROPORTION OF INFECTION WITH HELICOBACTER
PYLORI AT PATIENTS WITH GASTRIC CARCINOMA**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo sem opravljala v Diagnostičnem centru na Bledu.

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju za koristne napotke in pomoč pri nastajanju diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi prof. dr. Albertu Juteršku z Diagnostičnega centra Bled za koristne nasvete pri pisanju diplomske naloge in pomoč pri izbiri literature, ter vodstvu Diagnostičnega centra Bled za dovoljenje za izvajanje eksperimentalnega dela diplomske naloge.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm.

Ljubljana, 2009

Predsednik diplomske komisije:izr. prof. dr. Samo Kreft

Članica diplomske komisije: doc. dr. Barbara Ostanek, mag. farm.

VSEBINA

1 UVOD	1
1.1. ANATOMIJA IN FIZIOLOGIJA ŽELODCA	2
1.2. BOLEZNI ŽELODCA	4
1.2.1. Gastritis	4
1.2.2. Peptična razjeda želodca	6
1.2.3. Stresna razjeda	6
1.2.4. Hiperplastična gastropatija	7
1.2.5. Gastroezofagealna refluksna bolezen	7
1.2.6. Okužba z bakterijo Helicobacter pylori	7
1.2.7. Novotvorbe na želodcu	9
1.2.8. Maligni tumorji	11
1.2.9. Dejavniki tveganja za nastanek žleznega raka želodca	15
1.2.10. Maligni (ne-Hodgkinov) želodčni limfom	16
1.2.11. Stromalni (maligni) želodčni tumorji	16
2 NAMEN DELA	17
3 MATERIALI IN METODE	18
3.1. DIAGNOSTIČNI POSTOPKI ZA DOKAZ KARCINOMA	18
3.1.1. Histološka tehnika	18
3.2. DIAGNOSTIČNI POSTOPKI ZA DOKAZ H. PYLORI	21
3.2.1. Histološka barvanja	21
3.2.2. Hitri bioptični ureazni test (HUT)	21
3.2.3. Dihalni test s sečnino	22
3.3. VZORCI	23
3.4. STATISTIČNI PROGRAM	23

4 EKSPERIMENTALNI DEL.....	24
4.1. ZBIRANJE PODATKOV.....	24
4.2. OBDELAVA PODATKOV.....	24
4.3. SKUPINSKA ANALIZA	24
4.4 ANALIZA HP POZITIVNE SKUPINE BOLNIKOV	24
4.5. ROC ANALIZE.....	24
5 REZULTATI.....	25
5.1. ANALIZA STAROSTI CELOTNE SKUPINE BOLNIKOV.....	25
5.2. STAROST BOLNIKOV S KARCINOMOM GLEDE NA SPOL.....	27
5.3. DELEŽ BOLNIKOV S KARCINOMOM TER OKUŽBO S HP	30
5.3.1. Opisne statistike bolnikov s karcinomom želodca ter okužbo s HP	30
5.4. DELEŽ KARCINOMOV ŽELODCA BREZ PRISOTNE OKUŽBE S HP.....	33
5.5. ROC CURVE ANALIZE	35
5.5.1. Specifičnost in občutljivost Giemsa testa	35
5.5.2. Specifičnost in občutljivost dihalnega testa.....	36
6 RAZPRAVA.....	38
7 SKLEPI.....	40
8 LITERATURA	42

POVZETEK

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti kakšen je delež okužbe z bakterijo *Helicobacter pylori* pri bolnikih s karcinomom želodca, ter kako je bakterija povezana s samim razvojem karcinoma. V ta namen smo statistično ovrednotili 56 bolnikov, starih od 41 do 87 let. S histološko tehniko barvanja z metodo po Kreybergu smo jim določili prisotnost karcinoma, ter patološke posebnosti, ki so značilne kot prekancerозна stanja. Z diagnostičnimi testi za določanje okužbe s *Helicobacter pylori* smo preverili, koliko bolnikov ima sočasno prisotno še okužbo.

V diplomski nalogi smo uporabili rezultate, ki smo jih zbrali v histološkem laboratoriju Diagnostičnega centra Bled. Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili statistični programski paket SPSS 16.0 za Windows.

Na podlagi dobljenih rezultatov smo ugotovili, da se karcinom želodca nekoliko pogosteje razvije pri moškem spolu, pri obeh spolih se bolezen začne po 40. letu starosti z vrhom med 60 in 80 letom. Ugotovili smo tudi, da je delež okužbe z bakterijo HP 17,9 %, ter da je okužba značilna za intestinalni tip karcinoma, ki se razvije preko gastritisa, ki ga povzroča sama bakterija, ter intestinalne metaplazije in displazije.

Izmed diagnostičnih testov za določitev okužbe smo ugotovili, da sta najzanesljivejša testa histološko barvanje z metodo po Giemsi ter hitri ureazni bioptični test, nekoliko slabšo občutljivost pa ima dihalni test s sečnino.

ABSTRACT

In my diploma work I wanted to find out the share of infection with bacterium *Helicobacter pylori* among the stomach cancerous patients and I have described the connection between the infection with the bacterium *Helicobacter pylori* and the development of stomach cancer. In order to achieve this intention we have evaluated and processed 56 results of cancerous patients from the age of 41 to 87. We have used the histological technique of the Kreyberg's method to determine presence of carcinoma and its pathogenic characteristics. By making some diagnostic tests we have managed to define the number of patients with carcinoma and bacterial infection.

In my diploma work I have evaluated and processed the data results of cancerous patients that I gathered at Diagnostic centre Bled. Statistical data processing has been made by SPSS 16.0 for Windows.

According to the data we have realised that stomach cancer develops oftener at males. The disease starts at the age of 40 and achieves its top between the ages of 60 and 80. The share of bacterium infection equals 17,9% and the infection is typical for the intestinal type of carcinoma.

During the diagnostic tests analyses we have seen that the most reliable tests are the histological technique of the Giemsi's method and the rapid urease test.

1 UVOD

Kljub temu, da ima rak želodca v zadnjih letih tendenco upadanja, ostaja še vedno velik svetovni zdravstveni problem. Po incidenci je na četrtem mestu, po smrtnosti z 10,4% vseh smrti zaradi raka pa je na drugem mestu na svetu (1). V Sloveniji letno zboli 482 ljudi za rakom želodca, kar predstavlja 5,4% raka pri moških in 3,5% raka pri ženskah. Rak želodca je tako šesti najpogostejši rak v Sloveniji. Bolezen se začne po 40 letu z vrhom med 60 in 80 leti starosti (2). Tveganje za nastanek raka na želodcu je višje pri nižjih socialno ekonomskih slojih (1).

Večina bolnikov (85%) z rakom želodca ima adenokarcinom, preostalih 15% bolnikov pa ima predvsem limfom ali gastrointestinalni stromalni tumor. Želodčne adenokarcinome delimo po Laurenu na intestinalno obliko (50%) in difuzno obliko (33%), preostali bolniki pa imajo mešano ali neklasificirano obliko adenokarcinoma. Intestinalni tip želodčnega raka se razvije po dolgotrajnem procesu kroničnega vnetja želodčne sluznice preko kroničnega gastritisa, intestinalne metaplazije in displazije (3). Za to obliko želodčnega raka zbolevajo predvsem starejši bolniki, bolj pogost je v antralnem delu želodca in na mali krivini. V svetu upada predvsem intestinalni tip želodčnega raka, kar povezujejo z izboljšanjem življenjskih razmer in z upadanjem prevalence okužbe s *Helicobacter pylori* (1). Z *in vitro* raziskavami, raziskavami na živalskih modelih in s kliničnimi raziskavami so ugotovili, da je glavni karcinogen bakterija HP, ki je odgovorna za od 65% do 80% vseh rakov na želodcu. Ker je bakterija povzročiteljica kroničnih želodčnih vnetij, razjede na dvanajstniku in želodcu in sokrivec raka na želodcu je pomembno, da z zdravljenjem bakterijo odstranimo že pred pojavom displazije ali raka.

Difuzni tip želodčnega adenokarcinoma je pogostejši pri mlajših bolnikih, ima slabšo prognozo, raste difuzno in ne tvori dobro omejene tumorske mase (4). Subjektivnih težav in kliničnih znakov raka v ozdravljivem, zgodnjem stadiju, ni.

Makroskopski sum za karcinom želodca postavi gastroenterolog pri endoskopski preiskavi zgornjih prebavil (gastroskopiji). Za potrditev diagnoze pa se preiskovancu, na mestu kjer so spremembe sumljive za karcinom, odvzame biopsija želodčne sluznice in se odvzeti koščki, fiksirani v 4% formalinu, pošljejo na histopatološki pregled. V histopatološkem laboratoriju se biopsija obdela tako, da je primerna za mikroskopski

pregled, t.i. histopatološki pregled. To biopsijo nato pregleda histopatolog, ki potrdi ali ovrže diagnozo.

Pri histopatološkem pregledu se ugotavlja tudi prisotnost bakterije *Helicobacter pylori* (v nadaljevanju HP). Za ugotavljanje HP se uporablja tudi dihalni test s sečnino ter hitri ureazni test.

Sum za karcinom se postavi tudi z odvzemom krvi za pregled na tumorske označevalce (CEA, CA 19-9). Le-ti se uporabljajo tudi za nadaljnje spremljanje poteka bolezni.

Kljub vsemu pa je le histopatološki izvid tisti, na podlagi katerega se kirurgi odločajo za operacijo pacienta.

1.1. ANATOMIJA IN FIZIOLOGIJA ŽELODCA

Želodec je najširši del prebavne poti. Oblika in velikost se spreminjata in sta odvisni od količine zaužite hrane ali tekočine, mišičnega tonusa, starosti, telesne konstitucije in tudi nege telesa. Povprečna prostornina želodca je do 1600 ccm. Želodec delimo v kardijo, fundus, korpus, antrum in pilorus. Kardija predstavlja ločnico med požiralnikom in želodcem. Želodčni svod (fundus) leži višje od kardije in je običajno zapolnjen z zrakom. Telo želodca (korpus) predstavlja največji odsek želodca. Konča se z mišičnim vratarjem – pilorusom, za katerim se začne dvanajstnik. Ima veliko in malo krivino (5).



Slika 1: Zgradba želodca (5).

Stena želodca je sestavljena iz štirih plasti: serozno plast tvori peritonej, ki se na mali in veliki krivini nadaljuje v veliko in malo pečo, mišično plast, ki ima tri sloje, z vzdolžno, krožno in poševno potekajočimi vlakni, submukozno plast, sestavljeno iz rahlega veziva in sluznico želodca (mukozo), ki je nagubana v vzdolžne gube. Žleze želodčne sluznice so kardijalne žleze in ležijo okoli kardije ter izločajo sluz. Fundične žleze ležijo v fundusu in korpusu ter izločajo pepsinogen, solno kislino, vodo in sluz. Antralne ali pilorične žleze so v piloričnem delu želodca in izločajo alkalno sluz ter hormon gastrin. Antralni del je hormonski del želodca. Želodčna sluznica izloča še kloridne, natrijeve in kalijeve ione ter intrinzični faktor. Želodec oživčujejo parasimpatična nitja vagusa in simpatično nitje, ki prevaja tudi bolečino. Prehranjujeta ga dve arteriji, želodčne vene se izlivajo v portalno veno (6).

Želodec je zbiralnik hrane. V njem se meša hrana z želodčnim sokom v himus. V želodcu se začnejo prebavljati beljakovine s solno kislino in pepsinom. Druge naloge želodca so še: sinteza in izločanje gastrina v kri, izločanje intrinzičnega faktorja in izločanje sluzi, ki zaščiti želodčno sluznico in mehča hrano (6).

1.2. BOLEZNI ŽELODCA

1.2.1. Gastritis

Gastritis je vnetje želodčne sluznice. Je značilno morfološka diagnoza, ki jo lahko ugotovimo z endoskopskim pregledom in potrdimo s histološkim pregledom odvzetih biopsij iz antruma in želodčnega korpusa. Endoskopska razvrstitev upošteva najprej anatomsko lokalizacijo vnetja v želodcu in razvršča gastritise v pangastritis, kjer vnetje zajema celoten organ, antralni gastritis, v katerem je vnetje omejeno na antrum in korpusni gastritis, ki ima vnetje omejeno na korpus. Poleg tega endoskopist opiše še vidne spremembe na sluznici.

Histološka ocena v grobem zajema vrsto, aktivnost in jakost vnetne infiltracije želodčne sluznice z možnimi dodatnimi spremembami kot so atrofične in metaplastične spremembe sluznice in prisotnost povzročitelja, predvsem bakterije HP. Za primerno oceno gastritisa je potrebnih od tri do pet bioptičnih vzorcev iz različnih mest želodčnega antruma in korpusa (5).

Akutni (erozivni ali hemoragični) gastritis

Je posledica akutno nastale poškodbe sluznice, ki jo lahko povzročajo alkohol, začimbe, zdravila (nesteroidna protivnetna zdravila, aspirin), stres, vroča hrana ali tekočine, obsevanje, bakterijske infekcije, nekateri virusi. Akutno vnetje lahko povzroči tudi okužba s HP. Gastritis, povzročen s to bakterijo, lahko izzveni ali pa preide v kronično vnetje (5). Znaki akutnega površinskega gastritisa so slabost, bruhanje, bolečine v želodcu, kolcanje, pomanjkanje teka in odklanjanje hrane (6). Diagnozo lahko postavimo na podlagi kombinacije endoskopskih opazovanj in s histološkim opazovanjem biopsijskih vzorcev. Endoskopsko so vidne erozije in krvavitve, gastritis pa lahko v zgodnji, blažji fazi obstaja kot neeroziven in ima samo mukozno kongestijo in edem, histološko pa vidimo še vnetje (11).

Posebne oblike akutnega gastritisa:

- Akutni flegmonozni gastritis je zelo redka bolezen. Najpogostejši povzročitelj je alfa hemolitični streptokok.
- Emfizemski gastritis se pojavi, kadar je želodčna stena okužena mikroorganizmi, ki proizvajajo plin. Lahko se pojavi tudi po prenajedanju v okviru bulimije.

- Korozivni ali kavstični gastritis nastane po zaužitju koncentriranih lugov ali kislin, ki povzročajo nekrozo sluznice (4).

Kronični (neerozivni) gastritis

Je kronično vnetje želodčne sluznice, ki ga označuje kronična vnetna infiltracija z limfociti in plazmatkami. Nad 80% primerov ga povzroči okužba s HP, preostale oblike so redki avtoimuni ali drugi tipi gastritisov. Medtem ko je gastritis, povzročen s HP, lokaliziran pretežno v antrumu, je avtoimuni gastritis značilno lokaliziran v želodčnem korpusu(4). Kronični gastritis povzroči samo nekaj simptomov, ki so direktno povezani z želodčnimi spremembami, to so bruhanje, slabost in nelagodje v zgornjem abdomnu. Histološko je zanj značilno, da nima vidnih mukoznih erozij, ima pa kronične vnetne spremembe, ki vodijo v mukozno atrofijo. Epitelijske spremembe lahko postanejo displastične in se lahko transformirajo v karcinom (11).

Posebne oblike kroničnega gastritisa:

- Granulomatozni gastritis je redka oblika kroničnega gastritisa. Pojavijo se granulomi v želodčni sluznici pri Crohnovi bolezni, sarkoidozi, tuberkulozi in sifilisu.
- Refluksni gastritis najdemo ob duodenogastričnem refluksu, pogost je po delni resekciji želodca.
- Limfocitni gastritis se pojavlja v korpusni sluznici. Histološko ga označuje veliko število intraepitelijskih limfocitov (4).

Avtoimuni gastritis

Je kronično vnetje, ki je običajno omejeno na sluznico želodčnega korpusa. Je relativno redko. Nastopa kot samostojna bolezen ali pa spremlja druge avtoimune bolezni, na primer bolezni ščitnice, sladkorno bolezen tipa I, Addisonovo bolezen. Bolniki so običajno brez simptomov, dokler se ne pojavijo znaki pomanjkanja vitamina B₁₂ z megaloplastno anemijo. Končni stadij avtoimunega gastritisa je huda atrofija korpusne sluznice, ki povzroči aklorhidrijo in v 20% perniciozno anemijo. Diagnozo ugotovimo s histološko preiskavo sluznice želodčnega korpusa, ki pokaže atrofijo želodčne sluznice z značilnim skoraj popolnim uničenjem specifičnih žlez korpusne sluznice. Pogosto je prisotna intestinalna metaplazija (5).

1.2.2. Peptična razjeda želodca

Peptična razjeda (ulkus) je omejena poškodba stene votlega dela prebavil, ki sega globlje od muskularisa mukoze, zato se mesto razjede razpre. Je kronična in ponavljajoča bolezen. Pojavi se takrat, kadar agresivni dejavniki prevladajo obrambo, ki pri zdravih preprečujejo nastanek bolezni. Najpogostejši povzročitelji peptičnih razjed so bakterija HP, nesteroidna protivnetna zdravila, stres ter želodčna kislina in pepsin, ki sta normalni sestavini želodčnega soka. V želodcu najpogosteje nastane na mali krivini in v antrumu, to je zunaj območja želodčne sluznice, ki izloča solno kislino in pepsin. Kronična peptična razjeda je navadno ena sama in običajno meri manj kot 3 centimetre v premeru, medtem ko je število akutnih peptičnih razjed običajno večje. Akutno in kronično peptično razjedo zanesljivo ločimo le mikroskopsko, ko ugotovimo fibrozo in granulacijsko tkivo v dnu slednje (7). Poglavitni simptom razjede želodca je bolečina, ki se lahko pojavi kmalu po jedi, bolniki se zaradi bolečin bojijo jesti in hujšajo. Diagnozo ugotovimo z endoskopsko preiskavo zgornjih prebavil (4). Kot zaplet peptičnega ulkusa se lahko pojavi perforacija. Perforacija je predrtje razjede z iztekom želodčne vsebine v trebušno votlino. Tipični znak perforacije je nenadna huda bolečina v zgornjem delu trebuha in znaki peritonitisa. Bolečina se jača s premikanjem in dihanjem, zato bolnik mirno leži in površno diha. Zdravljenje je kirurško.

Lahko se pojavi tudi krvavitev, ki je najpogostejši zaplet in je lahko prvi znak, da obstaja razjeda (11).

1.2.3. Stresna razjeda

Stres lahko povzroči akutne erozivne razjede sluznice, ki se najpogosteje pojavljajo po obsežnih poškodbah, nevrokirurških posegih, operacijah, obsežnih opeklinah, pri šoku ali dihalni stiski, ledvičnih in jetrnih boleznih. Vodilni simptom je akutna krvavitev v prebavilih, redkeje se pojavi perforacija. Endoskopija zaradi krvavitve v zgornjih prebavilih omogoča ugotoviti pravilno diagnozo in zdravljenje krvavitve (4). Ulkusi, ki se pojavijo zaradi stresa so običajno majhni, okrogli do jajčasti, včasih nepravilni mukozni defekti ki na začetku zajamejo le proksimalni del želodčne sluznice, kasneje pa se lahko razširijo čez celoten želodec. Histološko vidimo, da so lezije posledica encimske prebave in imajo le majhen do zmeren vnetni infiltrat (11).

1.2.4. Hiperplastična gastropatija

Značilnosti bolezni so orjaške sluznične gube, ki se pojavijo največkrat v korpusu. Orjaške sluznične gube so največkrat odraz foveolarne hiperplazije, žlezne hiperplazije, pojavijo pa se lahko tudi zaradi vnetne ali karcinomske infiltracije sluznice. Pri bolniku se pojavijo bolečine v žlički, slab apetit, slabost in bruhanje. Diagnozo ugotovimo z rentgensko preiskavo želodca, ki pokaže odebeljene gube želodčne sluznice na veliki krivini želodčnega korpusa. Za potrditev diagnoze pa je potrebna histološka preiskava sluznice, kjer je vidna obilna foveolarna hiperplazija; pomnožene so celice, ki tvorijo sluz (4).

1.2.5. Gastroezofagealna refluksna bolezen

GERB nastane zaradi patološkega zatekanja želodčnega in / ali dvanajstnikovega soka v požiralnik (8). Pri tem lahko pride do okvare sluznice požiralnika (12). Tipična, najznačilnejša in najpogostejša simptoma sta zgaga in regurgitacija želodčne vsebine, pogosta sta tudi bolečina v prsih in disfagija. Pogosto se poleg tipičnih simptomov pojavljajo tudi atipični simptomi GERB-a in bolezni sosednjih organov požiralnika (pljuča, ORL, usta). GERB je zelo pogosta, kronična bolezen prebavil, ki pomembno vpliva na kakovost življenja bolnika. Je ena najpogostejših nadlog prebivalcev razvitega sveta (9).

1.2.6. Okužba z bakterijo *Helicobacter pylori*

Okužba z bakterijo HP je najpogostejša okužba pri ljudeh, ki spremlja človeštvo že iz prazgodovine. Prevalenca bolezni v posamezni državi je odvisna od ekonomske razvitosti, ki pogojuje sanitarno higienske in bivalne razmere v katerih živijo ljudje (14). Bakterija HP je vpletena v nastanek velikega števila bolezni želodčne sluznice. Je povzročiteljica kronični želodčnih vnetij, razjede na dvanajstniku in želodcu in je tudi sokrivec za pojav raka na želodcu (20).

Leta 1982 so Avstralci Warren, Marshall in Goodwin na bakterijskem gojišču uspešno vzgojili spiralno bakterijo iz biopsijskega vzorca, ki so ga odvzeli iz antralnega dela želodca pri bolniku z želodčnim ulkusom. Rod *Helicobacter* združuje več kot 15 bakterijskih vrst, *H. pylori* in *H. heilmannii* pa sta dokazano povezana z želodčnimi boleznimi pri ljudeh (13).

Značilnosti bakterije

HP je 3 do 5 μm dolga po Gramu negativna zapognjena ali spiralno zavita mikroaerofilna bakterija. Svedrasto se giblje s 4-6 unipolarnimi bički, na zraku ne preživi. Naseljena je pod mukusom v želodčnem in metaplastičnem gastričnem epiteliju v dvanajstniku. Bakterije HP so prilagojene na kislo okolje, saj izločajo encim ureazo, ki razgradi sečnino na amonijak in bikarbonat ter tako nevtralizira pH okolico bakterije. Hitro se gibljejo skozi zaščitno mukozno plast in se neenakomerno razporejajo po površini epiteljskih celic, vendar vanje ne vstopajo. Naravni gostitelj za HP je človek (13).

Možnih je več načinov prenosa:

- § ustno-ustna pot,
- § želodčno-ustna pot,
- § črevesno-ustna pot,
- § želodčno-želodčna pot,
- § prenos okužbe z vektorji.

Ta bakterija lahko ostane na želodčni sluznici dolgo časa, ne da bi povzročala bolezenske težave. Dokazali so jo v zobni oblogi in ustni votlini. Okužba je vezana na družinsko okolje (13). Prekuženost narašča s starostjo in je odraz predvsem slabših življenjskih razmer starejših v njihovem otroštvu, ko se zgodi večina okužb (14).

Prenos je mogoč tudi z okuženo pitno vodo in okuženimi endoskopi. Okužba vztraja desetletja, saj je spontano izginotje bakterije iz želodca redko.

Patogeneza

Nekaterim ljudem okužba s HP ne povzroča težav, pri drugih pa se pojavi gastritis in duodenalna ulkusna bolezen. Različne posledice okužbe so povezane z različno virulenco posameznih bakterijskih sevov, lahko pa so tudi individualne posebnosti imunskega odziva proti HP. Lastnosti, ki omogočajo bakteriji najti primerno mesto na celicah v želodčni sluznici in jih okvariti so: gibljivost, adhezivnost in antigenska spremenljivost. HP izloča različne snovi, ki omogočajo bakterijsko virulenco. Med encimi so najpomembnejši ureaza in 2 toksina. Ureaza je encim, ki katalizira hidrolizo sečnine, pri čemer nastane amoniak in CO_2 . Amoniak bakterijo zavije v bazični oblak in jo tako varuje pred kislim okoljem želodca. Vakuolizirajoči toksin (VacA) je protein, kodira ga gen vacA. Povzroča nastajanje vakuol v epiteljskih celicah. Drugi toksin, imenovan

citotoksični protein (CagA), je polipeptid in ga kodira gen cagA. Večina sevov, ki so jih dokazali pri bolnikih z ulkusno boleznijo, ima enega ali oba toksinska gena. Bolniki so pogosto okuženi z mešano populacijo sevov *H. pylori*, pri več kot 80% primerov poteka okužba brez simptomov. Določeni sevi HP povzročajo izrazitejše izločanje IL-8 iz epitelnih celic in zato večjo mobilizacijo nevtrofilcev ter višjo stopnjo aktivnega kroničnega gastritisa. HP je večinoma prisotna predvsem v antrumu želodca, kjer je vnetje najhujše. Zaradi povečanega izločanja kisline se v dvanajstniku razvije želodčna metaplazija, na to pa se naseli bakterija. Zaradi aktivnega kroničnega vnetja nastane mesto manjše odpornosti in mesto kroničnega pojavljanja razjede na dvanajstniku. Na mestu stika metaplazije z želodčno sluznico se razvije želodčna razjeda.

Bolezenske procese zaradi okužbe spremljajo lokalna in sistemska imunska dogajanja (13). Okužba s HP lahko povzroči tudi nastanek protiteles tipa IgA in IgG, ki jih lahko dokazujemo v serumu (4).

1.2.7. Novotvorbe na želodcu

Novotvorbe so pogosta želodčna bolezen. Lahko so benigne ali maligne, epiteljske ali mezenhimalne. Razdelitev je možna le s histološkim pregledom celotnega tumorja. Najpogosteje jih odkrivamo z gastrokopijo (4).

Polipi na želodcu

Kot v vseh prebavnih poteh je polip tudi v želodcu klinični morfološki pojem, ki zajema tvorbe različne velikosti, barve in oblike. Te se dvigajo nad površino sluznice in molijo v svetlino organa. Polipi so po obliki lahko le malo privzdignjeni, širokobazni ali pecljati. Lahko so posamični, v skupinah ali kot prava polipoza z zelo številnimi polipi. Želodčni polipi so povečini epiteljskega izvora in izhajajo iz foveolarnega in žleznega epitelijskega sluznice (4). Večina polipov je histološko hiperplastičnih ali pa so polipi fundičnih žlez (preglednica I). Na osnovi endoskopskega izgleda polipa ne moremo sklepati kakšen je polip, pri večjem številu polipov se izvede biopsija največjega polipa in po potrebi biopsija nekaterih manjših polipov (4).

Netumorski polipi:

- Polipi fundičnih žlez niso povezani z večjim tveganjem za razvoj raka.
- Hiperplastični polipi so povezani s povečanim tveganjem za nastanek raka. Etiopatogenetična osnova teh polipov je neznan dražljaj za proliferacijo foveolarnega in žleznega epitelija. Tvorijo se adenomu podobne hiperplastične strukture, ki pa so zgrajene iz normalnih epiteljskih in žleznih sestavin.
- Hiperplastični polipi najpogosteje zrastejo v antralnem segmentu želodca in so pogostejši pri sočasnem atrofičnem gastritisu in kroničnih erozijah (4). Priporoča se odstranitev vseh polipov, ki so večji od 0.5 cm (10).
- Vnetni polipi so nepravilni polipi, ki jih najdemo na mestih dolgotrajnih vnetnih draženj (4).

Tumorski polipi:

- Adenomatozni polipi imajo maligni potencial, ki je v povezavi z velikostjo polipa in starostjo bolnika. Polipe je potrebno odstraniti in histološko pregledati.
- Karcinoidi se pojavijo tudi v želodcu kot širokobazični polipi v korpusu in antrumu ali pa kot številni drobni do 1mm veliki polipi. Povezani so s kroničnim atrofičnim gastritisom in perniciozno anemijo.
- Leiomiom je najpogostejši polip iz skupine mezenhimskih tumorjev. Izhaja iz mišičnega sloja želodčne stene, lahko zraste v večje tumorske tvorbe, ki molijo v svetlino želodca in ga lahko utesnjujejo. Na tumorjevem temenu se pojavi nekrotična vdrtnina, ki lahko krvavi (10).

Preglednica I: Primerjava netumorskih in tumorskih želodčnih polipov (11).

NETUMORSKI POLIPI	TUMORSKI POLIPI
Lahko se pojavijo posamezno, pogosto so multipli	Ponavadi posamezni, včasih multipli
Po obliki majhni, mehki, bradavičasti	Po obliki imajo lahko malinam podobno glavo ali so bradavičasti in nagubani. Lahko so z ali brez peclja.
Običajno manjši kot 1 cm v premeru	Najpogosteje majhni, vendar lahko presegajo premer 4 cm
Sestavljeni iz hiperplastičnih, včasih cističnih žlez, ki so povezane z normalnim epitelijom	Epitelij je lahko dobro diferenciran iz benignih neoplastičnih celic ali pa je iz slabo diferenciranih hiperkromatičnih, prevelikih jeder in z mnogimi mitotičnimi aktivnostmi
Nizek maligni potencial	Visok maligni potencial

Želodčni polipi so redko simptomatični. Težave, ki se pojavljajo, so pogosto neznačilne: topa bolečina v žlički, včasih združena s slabostjo ali celo bruhanjem. Vprašanje je, ali jih povzročajo polipi sami ali pa sočasne druge bolezni želodca ali prebavil (4).

1.2.8. Maligni tumorji

Najpogostejši želodčni maligni tumor je adenokarcinom ali žlezni rak. Rak na želodcu je zelo pogost na Japonskem, v Čilu, Kolumbiji in na Havajih. Po obolevnosti je v Sloveniji na tretjem mestu vseh rakov, pri moških za pljučnim rakom in pri ženskah za rakom na dojki ter pri obeh za rakom debelega črevesa in danke. Pogostnost počasi upada.

Poleg karcinoma se v želodcu pojavlja pogosto tudi maligni ne – Hodgkinov limfom, ki je lahko primaren, omejen samo na želodec, ali pa je želodec zajet v sklop generalizirane bolezni. Drugi malignomi, kot so maligni karcinoid, Kaposijev sarkom in maligni Schwannov tumor, so v želodcu redki.

Tako kot pri drugih malignih boleznih tudi za želodčni rak patogeneza še ni poznana. Poseben pomen pri nastanku raka na želodcu imajo prekancerodne spremembe želodčne sluznice, ki so histopatološke skupine z višjim tveganjem, v katerih se rak pogosteje razvije kot v normalni sluznici. Med prekancerodne spremembe želodčne sluznice sodi

atrofični gastritis, intestinalna metaplazija, displazija epitelija in adenomatozni polipi. V zadnjih letih pa so raziskovalci potrdili vzročno povezavo med nastankom raka na želodcu ter okužbo s HP in Epstein-Barrovim virusom. Posebej hudo je tveganje zaradi okužbe s HP v otroštvu, saj povzroči v teku življenja pri 30 do 50% atrofični gastritis in atrofijo želodčne sluznice, ki prek intestinalne metaplazije in displazije prehaja v rak. Zdravljenje okužbe zato pomeni tudi preprečevanje želodčnega raka. Leta 1996 je Svetovna zdravstvena organizacija uvrstila bakterijo HP med biološke kancerogene dejavnike (4).

Zgodnji želodčni rak

Je bolezen, kjer je rakasta rašča omejena na mukozo in submukozo želodca ne glede na prisotnost bližnjih ali oddaljenih zasevkov. Pri bolnikih se pojavijo težave, ki so neznačilne. Najpogosteje se pojavlja napetost, spahovanje, v žlički se pojavi občutek teže. Krvavitev se pogosto pojavi kot prvi simptom zgodnje oblike, vendar redko obilna. Pri kliničnem pregledu bolnika z zgodnjim želodčnim rakom ne najdemo posebnosti, razen znakov anemije pri morebitni krvavitvi. Normalni so tudi laboratorijski izvidi.

Pri postavitvi diagnoze se uporablja gastroskopija, v zadnji letih pa se je uveljavil endoskopski ultrazvok, ki jasno pokaže globine karcinomske infiltracije v želodčni steni in morebitno prizadetost bezgavk. Makroskopski preiskavi sledi histološki pregled odvzetih biopsij (4).

Napreovali želodčni rak

Označuje prodor rakaste rašče v globlje predele želodčne stene. Ocena razširjenosti je lahko klinična, predoperativna, intraoperativna in patohistološka, ki je najbolj natančna. Pri napreovalnem želodčnem raku je simptomatika odvisna od lokalizacije bolezni in razširjenosti. Običajno vključuje inapetenco, hujšanje, občutek teže v žlički. Pojavlja se tudi disfagija, ki je prisotna pri bolnikih, kjer je bolezen lokalizirana v zgornji tretjini želodca in prehaja na kardijo. Znake zožitve pilorusa vidimo pri karcinomu antruma. Bolniki pogosto krvavijo, tudi obilno, zato so slabokrvni. Pri pregledu lahko tipamo tumor, tipne pa so lahko tudi povečane bezgavke. Laboratorijski izvidi običajno razkrivajo sideropenično anemijo. Pri gastroskopiji se napreovali želodčni rak večinoma kaže kot gomoljasta tvorba, ki moli v lumen in ga predvsem v območju antruma oži. Pogosta je tudi ploščata oblika napreovalnega raka, ki običajno zajema večje površine želodca (4).

Histološka razdelitev karcinomov

Histološko zgodnji rak želodca delimo na dve skupini. Razdelitev sloni na histoloških lastnostih tumorja. V prvo skupino spada intestinalni tip, ki je pretežno bolje diferenciran, se pogosteje pojavlja pri starejših bolnikih in ima boljšo prognozo. Razvija se počasi, stopenjsko, z značilnimi prekanceroznimi spremembami. Značilno je, da rakaste celice tvorijo strukture podobne normalnim žleznim strukturam.

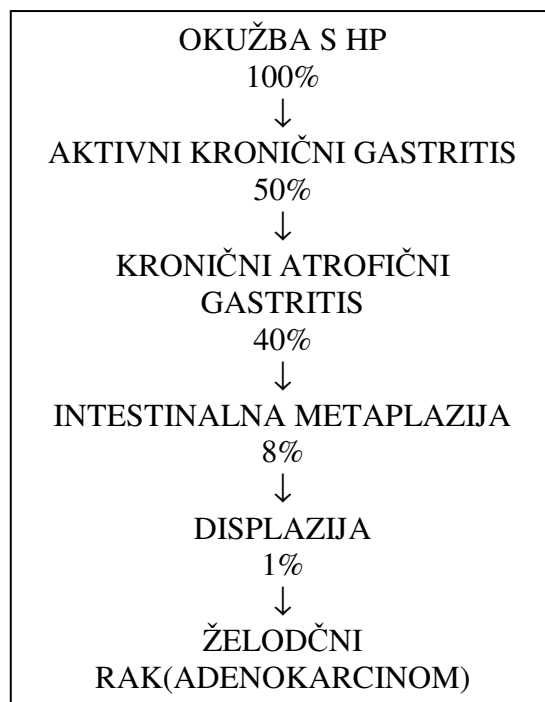
V drugo skupino spada difuzni tip raka, ki je slabše diferenciran, ima slabšo prognozo in je pogostejši pri mlajših bolnikih. Pri tej skupini niso znane prekancerozne spremembe. Tvorba žleznihih struktur se tu ne pojavlja, tumorske celice se širijo tudi pod normalno mukozo (3). Možna je tudi mešana oblika, kjer se pojavlja prva ali druga histološka oblika raka. Zgodnji rak lahko raste solitarno (ena sprememba) ali multiplo, ko so sočasno prizadeti različni deli želodca. Najpogosteje je rak lokaliziran v spodnji tretjini želodca, sledi ji srednja tretjina, nato zgornja (11).

Pri napredovalem želodčnem raku je histološka razdelitev enaka, to je na intestinalni, difuzni in mešani tip po Laureenu. Intestinalni tip raka praviloma spremlja intestinalna metaplazija okolne sluznice, makroskopsko pa se kaže kot gomoljasta oblika. Pri histološko difuznem tipu so pogosto prisotne celice pečatnice, mucinske in mukoidne celice. Tumorske celice so slabo diferencirane, nezrele. Mucin je lahko prisoten le okoli žlez, v stromi.

Želodčni rak se širi v globino in širino po organu. Lahko preide tudi na sosednja tkiva oziroma organe, zaseva v regionalne bezgavke po limfnih poteh, hematogeno pa v jetra, peritonej in pljuča ter kosti.

Intestinalni tip želodčnega raka se razvije po dolgotrajnem procesu kroničnega vnetja želodčne sluznice preko kroničnega gastritisa, intestinalne metaplazije in displazije (3). Bolj pogost je v antralnem delu želodca in na mali krivini.

Za intestinalno obliko žleznega raka velja kaskadna teorija po Pelayo Correi (slika 2). Pri približno 1% vseh okuženih bolnikov pri katerih se že v začetku okužbe s HP razvije izrazit aktivni kronični gastritis korpusa želodca, se lahko skozi desetletja preko atrofije, intestinalne metaplazije in displazije razvije intestinalna oblika želodčnega raka (22).



Slika 2: Prikaz karcinogeneze ob okužbi s HP (prirejeno po(22)).

Zdravljenje obeh vrst želodčnega raka je operativno. Odvisno od lokalizacije bolezni in histološke oblike je potrebna delna ali celotna odstranitev želodca in okolnih bezgavk. Prognoza je odvisna od stadija bolezni. Lokalni recidivi so pogosti že v prvem letu po operaciji, zato je potrebno dodatno zdravljenje s kemoterapijo in kemoimunoterapijo (22).

Želodčna intestinalna metaplazija in displazija

Bolniki z intestinalno metaplazijo želodčne sluznice imajo več kot 10-krat povečano tveganje za razvoj želodčnega raka, zato je pomembno spremljanje le-teh, saj pomaga k odkrivanju raka v zgodnejši fazi in zato izboljša preživetje (24).

Intestinalna metaplazija je transformacija enega žleznega epitela v drugega. Pojavi se pri atrofičnem kroničnem gastritisu. Gre za kronično vnetje želodčne sluznice antruma, korpusa in fundusa v lamini proprii, kjer najdemo številne limfocite. Pojavijo se degenerativne spremembe v epitelnih celicah, hkrati pa upade število gastričnih žlez. Le-te atrofirajo in se zamenjajo s tankim slojem celic, podobnim tistim v tankem ali debelem črevesu. Intestinalna metaplazija je preneoplastičen proces.

Pri displaziji gre za nenormalno celično in tkivno diferenciacijo zaradi delovanja zunanjih dejavnikov, pretežno v epiteliju. Histološke značilnosti displazije so porušeno razmerje

jedro-citoplazma, hiperkromazija jeder, povečani in številnejši nukleoli, patološke mitoze in eno ali več jedrne velikanke. Displazija je lahko prekanceroza (7).

1.2.9. Dejavniki tveganja za nastanek žleznega raka želodca

Genetski dejavniki

Difuzni rak želodca ima svojo genetsko podlago v mutacijah tumor supresorskega gena za E-kadherin na kromosomu 16q22. E-catherin ima glavno vlogo pri adheziji med celicami in s tem ohranjanju epitelne integritete. Mutacija zarodne celice predstavlja mehanizem prve poškodbe. Za razvoj bolezni pa je potrebna tudi inaktivacija drugega alela. Vlogo pri tem ima lahko tudi bakterija HP (15). Življensko tveganje za nastanek difuznega tipa raka želodca je pri nosilcih mutacije 67% za moške in 83% za ženske. Družinski člani s to dedno boleznijo, ki je avtosomno recesivno dedna, imajo tudi večjo možnost za nastanek žleznega raka dojke in pečatnoceličnega žleznega raka debelega črevesa. Danes se bolnikom po 20 letu starosti svetuje endoskopske kontrole želodca vsakih 6 mesecev in preventivno odstranitev želodca po 30 letu (16).

Pri določenih genetskih zapisih, kjer je prisoten polimorfizem vnetnih citokinov, lahko ob okužbi s HP pride do močnega vnetnega odgovora, ki privede do atrofičnega gastritisa korpusa. Tudi, če HP v takšnem okolju ne more preživeti, lahko druge bakterije, ki se naselijo v takšnem želodcu, nadaljujejo stimulacijo pretiranega imunskega odgovora. Tako se vzdržuje oksidativni stres in s tem se proces karcinogeneze tudi brez prisotnosti okužbe s HP (15).

Infekcijski dejavniki

Bakterijo je že leta 1994 mednarodna organizacija za raziskavo raka spoznala za karcinogen I. reda. Danes prevladuje ocena, da je vsaj 65 do 80% vseh rakov želodca brez raka kardije, posledica okužbe s HP. Kljub temu vemo, da bo samo 1% do največ 2% bolnikov s to okužbo v življenju zbolelo za rakom želodca. Okužba z baterijo HP povzroča aktivni gastritis, ki ga zaznamuje prisotnost nevtrofilcev. Nevtrofilni levkociti proizvajajo proste kisikove radikale, ki lahko poškodujejo DNA. Kronično vnetje sluznice želodca zaradi HP okužbe privede do poškodbe normalne sluznice, atrofije in metaplazije in postopno do uničenja perifernih matičnih celic. Zato se na njihovo mesto naselijo matične celice iz kostnega mozga. Zaradi stalnega vnetja, oksidativnega stresa in

pomanjkljivega celičnega stika (odsotnost parietalnih in glavnih celic), se v matičnih celicah kopičijo mutacije kar povzroči nastanek rakastih celic, ki vse izvirajo iz mutirane matične celice, ki tako postane rakava matična celica (18).

Prehrana

Uporaba večjih količin mesa, predvsem prekajenega (nitrati), poveča tveganje za nastanek raka želodca. Nitrati v hrani se po absorpciji v črevesju izločajo v slino. V ustih jih lahko bakterije spremenijo v nitrite. V želodcu se ob stanju aklorhidrije lahko vežejo z amini in amidi v karcinogene nitrozamine. Temu procesu nasprotuje vitamin C, lokalna koncentracija katerega je ob okužbi s HP znižana (17).

Drugi dejavniki

Hiperplastični polipi večji kot 2 cm in adenomi v okviru familiarne polipoze se lahko razvijejo v rak želodca, zato jih je potrebno odstraniti. Večje tveganje za razvoj raka je tudi pri kadilcih. Ženski spolni hormoni v rodni dobi pa znižujejo možnost za nastanek raka želodca (22).

1.2.10. Maligni (ne-Hodgkinov) želodčni limfom

Simptomi in klinična slika se ne razlikujejo od karcinoma. Endoskopski videz je sicer podoben karcinomu, vendar so značilne nabrekle sluznične gube z razjedami različnih oblik in velikosti. Diagnoza je histološka.

Nizko maligni ne-Hodgkinov limfom je v 90% povezan z okužbo s HP, zato pri histološkem odvzemu testiramo tudi na prisotnost te bakterije (11).

1.2.11. Stromalni (maligni) želodčni tumorji

V želodcu zraste približno 50% vseh stromalnih tumorjev v prebavnih poteh. Najpogostejši benigni tumor gladkega mišičja je leiomiom, ki izhaja iz mišičnega sloja želodčne stene. Na tumorjevem temenu se pogosto pojavi nekrotična vdrtnina, ki lahko krvavi. Pogostejši je epiteloidni histološki tip leiomioma, redkeje celični. Razlikovanje je histološko. Tudi razlikovanje benignega in malignega tumorja je v domeni histopatologa. Pri tem je pomembna velikost tumorja, število mitoz v vidnem polju ter gostota celic s porušenim razmerjem med jedrom in citoplazmo.

2 NAMEN DELA

Okužba z bakterijo HP je eden izmed najpogostejših dejavnikov za razvoj karcinoma želodca. Še posebno je okužba značilna za intestinalni tip karcinoma, za katerega velja, da se lahko razvije preko okužbe z bakterijo, ki povzroča kronični gastritis. Iz kroničnega gastritisa se lahko razvije intestinalna metaplazija in displazija, ki privedeta do razvoja karcinoma želodca. Barvanje histoloških preparatov z metodo po Kreybergu nam poda informacije o prisotnosti karcinoma, tipu karcinoma in ostale patološke lastnosti odvzetega biopta.

Prisotnost bakterije HP ugotavljamo z različnimi invazivnimi in neinvazivnimi diagnostičnimi metodami. Pogosto se uporablja dihalni test s sečnino, ki je občutljiv, specifičen in široko dostopen test. Pri gastroskopiji pa se pogosto izvaja hitri ureazni bioptični test, ki ima prav tako visoko občutljivost in specifičnost. Z metodo barvanja histoloških preparatov po Giemsi prav tako določamo prisotnost bakterije.

V Diagnostičnem centru Bled smo s histološkim barvanjem po Kreybergu ugotovili prisotnost karcinoma želodca pri 56 pacientih, starih od 41-87 let. V 10 primerih smo ugotovili, da je sočasno prisotna okužba s HP. V diplomski nalogi bomo statistično ovrednotili rezultate histoloških barvanj in diagnostičnih metod za ugotovitev bakterije HP z namenom, da ugotovimo:

- Pri katerem spolu in v katerem starostnem obdobju se najpogosteje razvije karcinom?
- Kakšen je delež okužbe z bakterijo HP pri bolnikih s karcinomom želodca?
- Pri katerem tipu karcinoma želodca je okužba pogostejša?
- Katere patološka stanja so prisotna pri karcinomu želodca?
- Kateri izmed treh testov za določitev okužbe s HP je najbolj zanesljiv?

3 MATERIALI IN METODE

3.1. DIAGNOSTIČNI POSTOPKI ZA DOKAZ KARCINOMA

3.1.1. Histološka tehnika

Histološka tehnika obsega številne postopke, s katerimi pripravimo tkivo za mikroskopski pregled. Z njimi iz tkivnega vzorca izdelamo histološke preparate.

Tkivni vzorec odvezamo z biopsijo ali pri avtopsiji. Velikost tkivnega vzorca je odvisna od načina odvzema in od izbrane tehnike, s katero bomo preiskovali tkivo.

Histološki preparat, pripravljen za svetlobnomikroskopski pregled, je 4 do 6 mikrometrov debela rezina tkiva, ki jo prilepimo na objektno steklo in pokrijemo s pokrivalko. Posamezne tkivne strukture ali celične sestavine prikažemo v različnih barvah (7).

Fiksacija

Prva faza v postopku izdelave trajnega histološkega preparata je fiksacija. Tkivo moramo takoj po odvzemu potopiti v fiksativ, s čemer preprečimo avtolizo in gnitje tkiva, ohranimo morfološko strukturo tkiva, preprečimo difuzijo topnih tkivnih sestavin in ohranimo kemične sestavine tkiva.

Delovanje fiksativov na tkivo je kompleksen proces, kjer med sestavinami tkiva in fiksativom sočasno potekajo številne ireverzibilne fizikalno-kemične reakcije. Po kemični sestavi razdelimo fiksative v naslednje skupine:

- Aldehidi (formaldehid, glutaraldehid),
- Alkoholi (etanol, metanol),
- Organske kisline (ocetna kislina, pikrinska kislina),
- Oksidanti (kalijev bikromat, osmijev tetroksid).

Pri fiksaciji se spreminjata količina in način vezave vode v tkivu, lahko pa pride tudi do nastanka neželenih sprememb v tkivu, kot so:

- Krčenje in nabrekanje celic,
- Izgubo nekaterih tkivnih sestavin,
- Spremenjeno reaktivnost nekaterih molekul,
- Premik substanc znotraj celic in tkiv in s tem povezana napačna lokalizacija (7).

Izbira fiksativa je odvisna od vrste tkiva in sestavin, ki jih želimo posebej prikazati. Najbolj razširjen fiksativ je formalin, to je 4% vodna raztopina formaldehida. Čas fiksacije je odvisen od velikosti vzorca, običajno zadostuje 24 ur (7).

Prepajanje fiksiranih tkivnih vzorcev

Prepajanje fiksiranih tkivnih vzorcev omogoča rezanje primerno tankih histoloških rezin. Rutinski način obdelave tkiva za svetlobno mikroskopijo je prepajanje s parafinom, ki je mešanica ogljikovodikov z dolgo in razvejano verigo in tališčem 57 – 60 °C. Fiksirano tkivo dehidriramo z etanolom, obdelamo z organskim topilom – ksilenom in prepajamo v raztopljenem parafinu. Rutinski postopek traja do 24 ur (7).

Rezanje histoloških rezin

Za svetlobnomikroskopsko preiskavo poteka rezanje histoloških rezin na mikrotomu z mikrotomskimi noži, za elektronskomikroskopsko preiskavo pa se uporabljajo stekleni oziroma diamantni noži na ultramikrotomu. Odrezano rezino s pomočjo čopiča prenesemo na vodno kopel in jo poberemo iz kopeli z objektnim steklom(7).

Histološka barvanja

Pri mikroskopskem pregledu neobarvanega histološkega preparata posameznih tkivnih struktur ne ločimo dobro, zato jih prej obarvamo. Barvamo z biološkimi barvili, ki so posebno čista organska barvila. Barvanje je posledica afinitete barvila do tkivnih sestavin, kar pomeni, da barvilo pronica iz barvne raztopine v tkivo. Lahko se adsorbira na površini posameznih tkivnih struktur, se v njih raztaplja ali pa med sestavnim delom tkiva in reagentom poteka kemična reakcija, katere rezultat je obarvan reakcijski produkt. Afiniteta je lahko posledica privlačnih sil med ionskimi skupinami barvil in tkivnimi sestavinami z nasprotnim električnim nabojem. Glede na proste ionske skupine razdelimo barvila na:

- Anionska barvila, ki vsebujejo proste anionske skupine, ki se vežejo na proste skupine proteinov z nasprotnim nabojem. Deli tkiva, ki se obarvajo z anionskimi barvili imajo acidofilne lastnosti.
- Kationska barvila vsebujejo proste kationske skupine in jih privlačijo anionske kisline jedrnih kislin, zato so to večinoma jedrna barvila. Deli tkiva, ki se obarvajo s temi barvili, imajo bazofilne lastnosti (7).

Za postavitev diagnoze karcinoma želodca, določitev tipa karcinoma ter ostale patološke lastnosti (prisotnost vnetja, intestinalne metaplazije, displazije, razjede, atrofije) uporabljamo standardno metodo po Kreybergu.

Postopek barvanja po Kreybergu:

Referenca: Diagnostični center Bled, Protokol dela v histološkem laboratoriju

Barvanje poteka strojno, v aparatu za barvanje preparatov po sledečem postopku:

Deparafinacija → absolutni alkohol → 96% alkohol → voda → barvilo Celestine Blue (5 minut) → spiranje s tekočo vodo → barvilo hematoksilin (5 minut) → spiranje s tekočo vodo → solno kisli alkohol (30 sekund) → spiranje s tekočo vodo → barvilo eritrozin → spiranje s tekočo vodo → 96% alkohol → spiranje s tekočo vodo → barvilo Alcian Green (5 minut) → spiranje v destilirani vodi → absolutni alkohol (5 minut) → barvilo žafran (1 minuta) → 2 x absolutni alkohol → topilo Ultra Clear (bistrenje preparatov).

Rezultat:

kisli mukopolisaharidi – zeleni,

jedra – modra,

vezivna vlakna – rumeno oranžna,

citoplazma – rumeno rožnata.

Pobarvan tkivni preparat pregleda histopatolog.

3.2. DIAGNOSTIČNI POSTOPKI ZA DOKAZ H. PYLORI

3.2.1. Histološka barvanja

Za določitev prisotnosti oziroma odsotnosti okužbe z bakterijo HP se uporablja histološka tehnika barvanja po Giemsi.

Postopek barvanja po Giemsi:

Referenca: Diagnostični center Bled, Protokol dela v histološkem laboratoriju

Barvanje poteka strojno, v aparatu za barvanje preparatov po sledečem postopku:

Deparafinacija → absolutni alkohol → 96% alkohol → voda → barvilo Giemsa (30 minut) → spiranje s tekočo vodo → 96% alkohol → absolutni alkohol → topilo Ultra Clear.

bakterije *Helicobacter pylori* – temno modra,

jedra – temno modra,

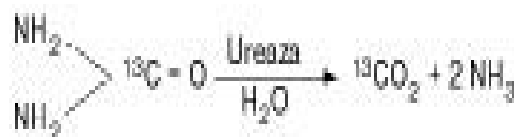
citoplazma – vijolična.

Po končanem barvanju preparate pokrivamo s krovnimi stekli. Kot smolo uporabljamo Ultra Kitt (19).

Pobarvan tkivni preparat pregleda histopatolog.

3.2.2. Hitri bioptični ureazni test (HUT)

HUT je osnovni invazivni diagnostični test za ugotavljanje okužbe s HP pri endoskopskih preiskavah zgornjih prebavil. Temelji na sposobnosti razgradnje sečnine s pomočjo bakterijskega encima ureaze v amonijev ion in bikarbonat:



Slika 3: Reakcija razgradnje sečnine (20).

Med reakcijo pride do spremembe pH, kar zaznamo s pH indikatorjem. Hitrost reakcije je premosorazmerna koncentraciji HP v vzorcu in je lahko v nekaterih primerih zaradi majhnega števila bakterij rezultat tudi lažno negativen. Lažno pozitivne rezultate dobimo zelo redko, ker je HP edina bakterija, ki v tako veliki koncentraciji tvori ureazo. Segrevanje medija z vzorcem pospeši reakcijo (20).

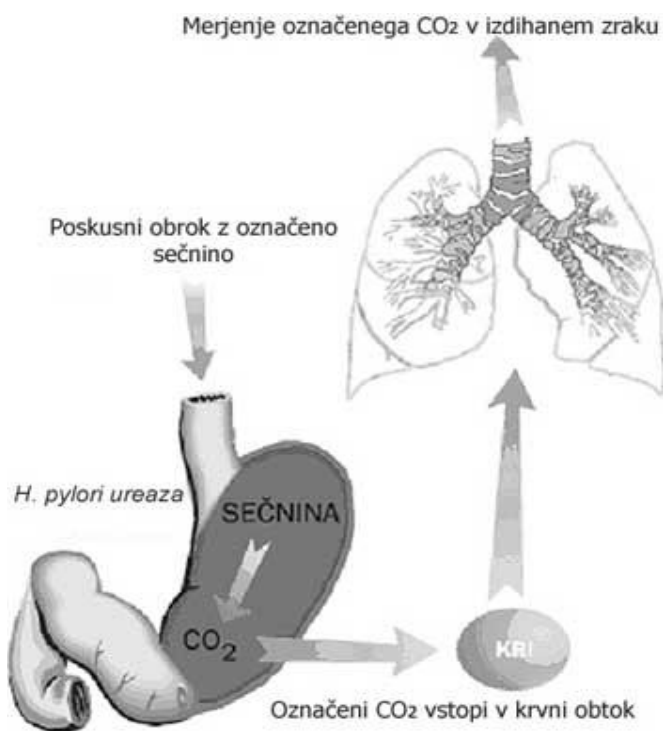
Zdravnik test opravi takoj ob gastrokopiji na odvzetem koščku želodčne sluznice. V posebni plastični posodici je sečnina vklopljena v agar gel skupaj s fenolnim rdečilom in bakteriostatičnim sredstvom. Vzorce želodčnega tkiva potopimo v agar s sterilno iglo. V primeru prisotnosti HP pride do razgradnje sečnine, pH se spremeni v alkalno smer, kar povzroči spremembo barve pH indikatorja in rumene v rdečo barvo. Pozitivni rezultat je potrditev okužbe. Občutljivost in specifičnost testa je med 90 in 95% (21).

3.2.3. Dihalni test s sečnino

Dihalni test s sečnino je široko dostopen, neinvaziven test z visoko občutljivostjo in specifičnostjo. Princip testa temelji na isti reakciji kot HUT. S testom določamo celokupno encimsko aktivnost. Pacientu damo določeno količino sečnine, ki ima namesto ^{12}C v molekuli ^{13}C . ko v želodcu ureaza, ki jo izloča HP, razgradi testno sečnino, se ^{13}C pojavi v bikarbonatnem anionu. Bikarbonatni anion se absorbira v kri in se kot CO_2 oziroma $^{13}\text{CO}_2$ izloči v izdihanem zraku. Če izmerimo razmerje $^{12}\text{C} / ^{13}\text{C}$ pred tem, ko bolniku damo označeno sečnino, in po tem, ko je bolnik popil označeno sečnino, bo to razmerje ob prisotnosti bakterije spremenjeno. Če je povečanje razmerja za več kot 4 % je rezultat pozitiven (20).

Postopek izvedbe dihalnega testa:

1. odvzem vzorcev na 0. (bazalno) meritev: pacient 2-krat pihne skozi slamico v epruveti toliko zraka, da se epruveta orosi. Epruveto takoj zamašimo.
2. bolnik nato popije testni obrok, ki je sestavljen na bazi citronske kisline.
3. Zaužitje ^{13}C sečnine (ob prvem požirku sprožimo štoparico).
4. odvzem naslednjih vzorcev: naslednji vzorec vzamemo po 30 minutah.
5. meritev na aparatu (20).



Slika 4: Princip dihalnega testa s sečnino.

3.3. VZORCI

Analizirali smo 56 bolnikov s karcinomom želodca starosti od 41 do 87 let.. S histološkim barvanjem po Kreybergu smo določili tip karcinoma ter patološke spremembe, ki so sočasno prisotne. S histološkim barvanjem po Giemsi, hitrim ureaznim testom in dihalnim testom s sečnino smo ugotavljali prisotnost oziroma odsotnost bakterije HP. Bolnike smo razdelili v dve skupini, glede na prisotnost / odsotnost okužbe.

3.4. STATISTIČNI PROGRAM

Za statistično obdelavo zbranih podatkov smo uporabili statistični programski paket SPSS 16.0 za Windows. Za preverjanje hipoteze o normalni porazdelitvi starosti bolnikov smo uporabili Kolmogorov-Smirnov test. Z opisno statistiko smo izračunali frekvenčno porazdelitev bolnikov glede na spol, patološke spremembe in rezultate diagnostičnih testov za določitev okužbe. Z ROC analizo smo ugotavljali kateri diagnostični test za določitev HP je najbolj zanesljiv.

4 EKSPERIMENTALNI DEL

4.1. ZBIRANJE PODATKOV

Histološka barvanja z metodo po Krybergu in Giemsi, ter diagnostični testi za določitev okužbe s HP so bili izvedeni v Diagnostičnem centru na Bledu v času od meseca junija 2008 do januarja 2009. Podatke smo vnesli v statistični program SPSS in jih razdelili v dve skupini, glede na okužbo s HP.

4.2. OBDELAVA PODATKOV

Vsako skupino, glede na okužbo, smo analizirali posebej. Predvsem smo izpostavili skupino bolnikov s pozitivnim rezultatom testiranja na bakterijo HP.

4.3. SKUPINSKA ANALIZA

Najprej smo z deskriptivno statistiko izračunali povprečno starost vseh bolnikov, ter ločeno glede na spol. S tem testom smo izračunali še povprečno vrednost in standardno deviacijo. S pomočjo Kolmogorov –Smirnovega testa smo testirali normalno porazdelitev starosti bolnikov v celotni skupini, ter ločeno za moške in ženske. S pomočjo histogramov smo grafično prikazali porazdelitev podatkov. Vse statistične teste smo opravili pri stopnji značilnosti 0,05.

4.4 ANALIZA HP POZITIVNE SKUPINE BOLNIKOV

Predpostavili smo, da je izmed diagnostičnih testov za določitev okužbe z bakterijo HP najzanesljivejši hitri ureazni bioptični test. Tako smo bolnikom, ki so imeli HUT test pozitiven izračunali frekvenčno porazdelitev glede na :

- spol,
- rezultate dihalnega testa s sečnino ter histološkega barvanja z metodo po Giemsi
- prisotne patološke spremembe,
- lokacijo karcinoma v želodcu in
- tip karcinoma.

4.5. ROC ANALIZE

Ovrednotili smo rezultate ROC analiz za dihalni test s sečnino in Giemsa test.

5 REZULTATI

5.1. ANALIZA STAROSTI CELOTNE SKUPINE BOLNIKOV

	Statistic	Std. Error
Starost Mean	66,23	1,448
95% Confidence Interval Lower Bound for Mean	63,33	
Upper Bound	69,13	
5% Trimmed Mean	66,41	
Median	65,00	
Variance	117,491	
Std. Deviation	10,839	
Minimum	41	
Maximum	87	
Range	46	
Interquartile Range	14	
Skewness	-,332	,319
Kurtosis	-,435	,628

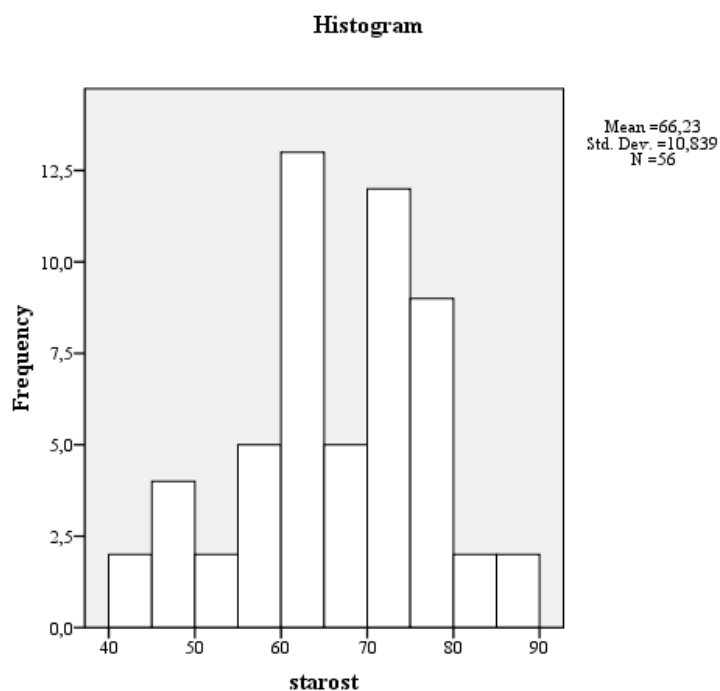
Tabela 1: Rezultati opisne statistike starosti bolnikov s karcinomom želodca.

Iz podatkov je razvidno, da je povprečna starost bolnikov s karcinomom želodca 66,23 let. Najmlajši preiskovani bolnik je star 41 let, najstarejši 87. Standardna deviacija znaša 10,84 let (tabela 1).

	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Statistic	df	Sig.
starost	,131	56	,017

Tabela 2: Test normalnosti za starost.

Test normalnosti pokaže, da se starost bolnikov ne razporeja po ključu normalne distribucije, saj je signifikantno nižja od 0,05 (slika 6).



Graf 1: Histogram starosti bolnikov.

Iz histograma je razvidno, da v našem primeru ne gre za Gaussovo krivuljo normalnosti, saj je starostna skupina med 60-65 let velika, med 65-70 majhna, nato med 70-75 letom spet velika. Histogram za starost bolnikov nam pokaže, da je največje število obolelih za rakom želodca med 60 in 65 letom starosti (slika 7).

5.2. STAROST BOLNIKOV S KARCINOMOM GLEDE NA SPOL

Spol		Statistic	Std. Error	
Starost Moški	Mean	67,64	1,951	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	63,66	
		Upper Bound	71,61	
	5% Trimmed Mean	67,84		
	Median	69,00		
	Variance	125,551		
	Std. Deviation	11,205		
	Minimum	43		
	Maximum	87		
	Range	44		
	Interquartile Range	16		
	Skewness	-,321	,409	
	Kurtosis	-,496	,798	
	Ženski	Mean	64,22	2,125
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	59,81	
		Upper Bound	68,63	
5% Trimmed Mean		64,65		
Median		64,00		
Variance		103,905		
Std. Deviation		10,193		
Minimum		41		
Maximum		79		
Range		38		
Interquartile Range		16		
Skewness		-,556	,481	
Kurtosis		-,326	,935	

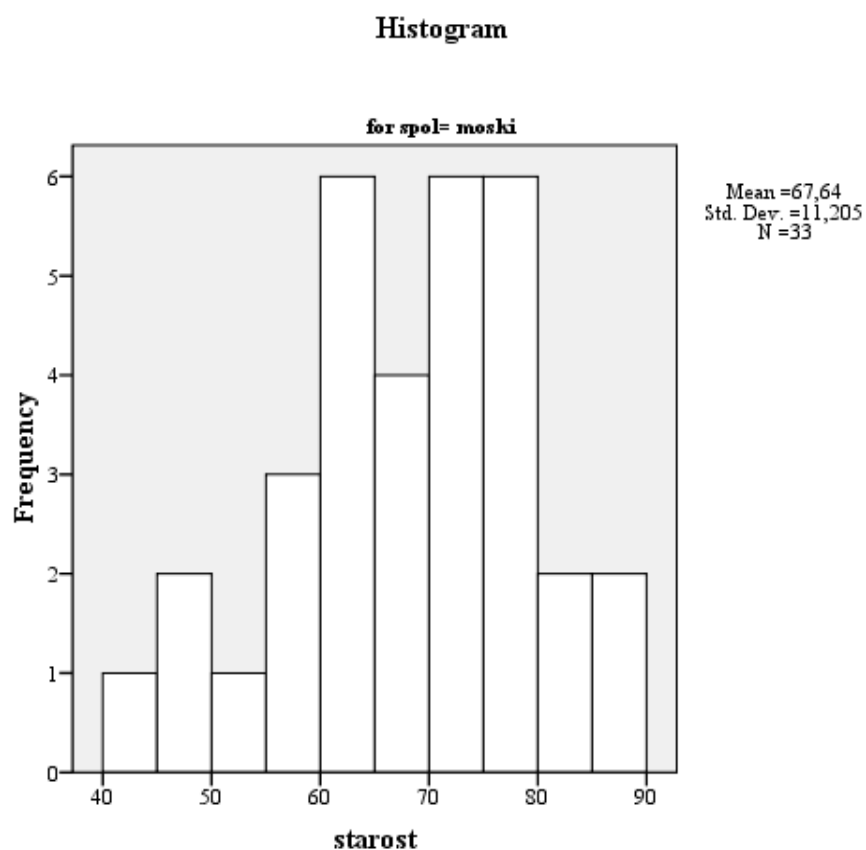
Tabela 3: Rezultati opisne statistike starosti glede na spol pacientov.

Iz podatkov o starosti glede na spol bolnikov je razvidno, da je povprečna starost moških (67,64 let) in je višja od povprečne starosti žensk (64,22 let).

spol		Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Statistic	df	Sig.
starost	Moški	,106	33	,200*
	Ženske	,169	23	,088

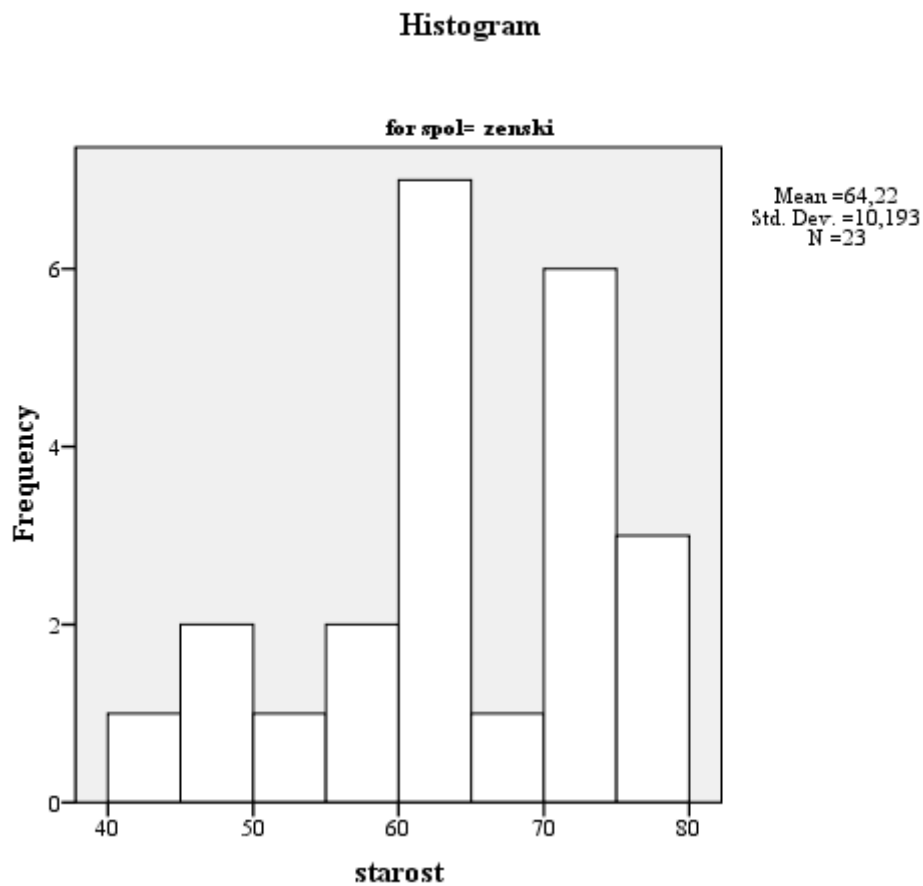
Tabela 4: Test normalnosti glede na spol.

Test normalnosti ločeno za moške in ženske pokaže, da se starost znotraj obeh skupin razporeja relativno normalno. Pri ženskah se sicer nakazuje odstopanje od te distribucije, a signifikantno ni manjši od 0,05, temveč le od 0,1 (tabela 4).



Graf 2: Histogram starosti za moški spol.

Iz histograma lahko razberemo, da moški najpogosteje obolevajo za rakom želodca v starostnem obdobju med 60-65 letom, ter med 70-80 letom.



Graf 3: Histogram starosti za ženski spol.

Iz histograma za ženski spol je razvidno, da ženske prav tako kot moški najpogosteje obolevajo za rakom želodca v starostnem obdobju med 60-65 letom, medtem ko je druga starostna meja nekoliko krajša in je med 70-75 letom.

5.3. DELEŽ BOLNIKOV S KARCINOMOM TER OKUŽBO S HP

HUT

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Okužba odsotna	46	82,1	82,1	82,1
	Okužba prisotna	10	17,9	17,9	100,0
	Total	56	100,0	100,0	

Tabela 5: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na HUT test.

Iz rezultatov je razvidno, da ima od 56 bolnikov s karcinomom želodca 17,9 % bolnikov prisotno tudi okužbo s HP.

5.3.1. Opisne statistike bolnikov s karcinomom želodca ter okužbo s HP

Spol

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Moški	7	70,0	70,0	70,0
	Ženski	3	30,0	30,0	100,0
	Total	10	100,0	100,0	

Tabela 6: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na spol.

Iz rezultatov je razvidno, da je 70 % bolnikov s karcinomom želodca in okužbo s HP moških, 30 % pa žensk.

Histološko barvanje z metodo po Giemsi

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Pozitiven	10	100,0	100,0	100,0

Tabela 7: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na rezultate histološkega barvanja z metodo po Giemsi.

Iz tabele vidimo, da so rezultati histološkega barvanja z metodo po Giemsi v vseh primerih pozitivni.

Dihalni test

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Negativen	3	30,0	30,0	30,0
Pozitiven	7	70,0	70,0	70,0
Total	10	100,0	100,0	

Tabela 8: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na rezultate dihalnega testa.

Iz podatkov o rezultatih dihalnega testa s sečnino je razvidno, da je pozitiven pri 70 % bolnikov.

Tip karcinoma

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Intestinalni tip	6	60,0	60,0	60,0
Mešani tip	4	40,0	40,0	100,0
Total	10	100,0	100,0	

Tabela 9: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na tip karcinoma.

Iz dobljenih rezultatov vidimo, da je delež HP pozitivnih bolnikov z intestinalnim tipom karcinoma želodca 60%, z mešanim tipom pa 40%. Ugotovimo, da ni bilo bolnikov z difuznim tipom karcinoma želodca.

Del želodca

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Antrum	4	40,0	40,0	40,0
Korpus	2	20,0	20,0	60,0
Kardija	2	20,0	20,0	80,0
Antrum, korpus	1	10,0	10,0	90,0
Kardija, korpus	1	10,0	10,0	100,0
Total	10	100,0	100,0	

Tabela 10: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na del želodca, kjer se je razvil karcinom.

V tabeli je razvidno, da je najpogostejši del želodca, kjer se pojavi karcinom želodca antrum (40%), sledi korpus (20%), nato kardija (20%). Manj pogosto se karcinom razvije hkrati v večih delih želodca.

Vnetje

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Prisotno	10	100,0	100,0	100,0

Tabela 11: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na prisotnost oziroma prisotnost vnetja.

Vnetje se pojavi v 100% primerih.

Intestinalna metaplazija

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Odsotna	4	40,0	40,0	40,0
Prisotna	6	60,0	60,0	100,0
Total	10	100,0	100,0	

Tabela 12: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na prisotnost oziroma odsotnost intestinalne metaplazije.

Intestinalna metaplazija se pojavi pri 60 % HP pozitivnih bolnikov s karcinomom želodca.

Atrofija

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Odsotna	3	30,0	30,0	30,0
Prisotna	7	70,0	70,0	100,0
Total	10	100,0	100,0	

Tabela 13: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na prisotnost oziroma odsotnost atrofije.

Atrofija se pojavi pri 70% primerih HP pozitivnih bolnikov s karcinomom.

Hipertrofija in hiperplazija

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Odsotno	2	20,0	20,0	20,0
Prisotno	8	80,0	80,0	100,0
Total	10	100,0	100,0	

Tabela 14: Frekvenčna porazdelitev pacientov glede na prisotnost oziroma odsotnost hipertrofije in hiperplazije.

Hiperplazija in hipertrofija želodčne sluznice se pojavita pri 80% primerih HP pozitivnih bolnikov s karcinomom želodca.

5.4. DELEŽ KARCINOMOV ŽELODCA BREZ PRISOTNE OKUŽBE S HP

HUT

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Okužba odsotna	46	82,1	82,1	82,1
Okužba prisotna	10	17,9	17,9	100,0
Total	56	100,0	100,0	

Tabela 15: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na rezultate HUT testa.

Delež karcinomov želodca, ker ni prisotna okužba s HP je 82,1 %.

Tip karcinoma

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Intestinalni tip	28	60,9	60,9	60,9
Difuzni tip	9	19,6	19,6	80,4
Mešani tip	9	19,6	19,6	100,0
Total	46	100,0	100,0	

Tabela 16: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na tip karcinoma.

Najbolj pogost tip karcinoma želodca, brez okužbe s HP, je intestinalni tip (60,9%).

Difuzni in mešani tip karcinoma se pojavita enako pogosto, vsak v 19,6 % primerih.

Del želodca

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Antrum	30	65,2	65,2	65,2
Korpus	10	21,7	21,7	87,0
Kardija	3	6,5	6,5	93,5
Korpus,antrum	1	2,2	2,2	95,7
Kardija,korpus	1	2,2	2,2	97,8
Antrum,korpus	1	2,2	2,2	100,0
Total	46	100,0	100,0	

Tabela 17: Frekvenčna porazdelitev bolnikov glede na del želodca, kjer se je razvil karcinom.

Iz tabele vidimo, da je del želodca, kjer se najpogosteje razvije karcinom želodca antrum (65,2%), nato korpus (21,7%). Maj pogosto se karcinom razvije v dveh delih želodca hkrati.

5.5. ROC CURVE ANALIZE

HUT test v naši raziskavi preiskavi predstavlja najbolj zanesljiv diagnostični test. Predpostavili smo, da je 100 % zanesljiv, na podlagi HUT rezultatov smo ovrednotili histološko barvanje z metodo po Giemsi ter dihalni test s sečnino.

Statistično smo ovrednotili skupino 10 bolnikov, ki imajo pozitiven HUT test in hkrati 3 negativne rezultate dihalnega testa.

5.5.1. Specifičnost in občutljivost Giemsa testa

Giemsa

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1,000	,000	,000	1,000	1,000

Tabela 18: Vrednost območja pod krivuljo

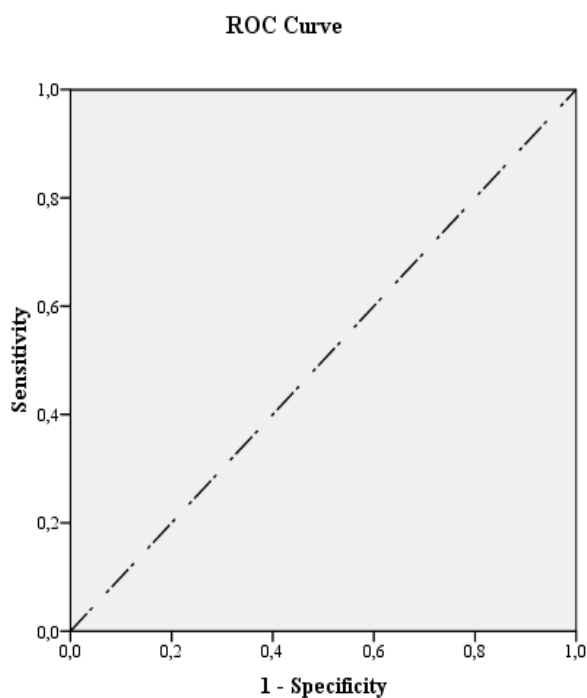
Vrednost območja pod krivuljo grafa za metodo po Giemsi je 1,0.

Če bo izbran posameznik imel okužbo s HP (kot jo zazna HUT test) potem bo takega posameznika v 100% Giemsa test rangiral višje kot posameznika brez okužbe.

Giemsa

Positive if Greater Than or Equal To ^a	Sensitivity	1 - Specificity
-1,00	1,000	1,000
,50	1,000	,000
2,00	,000	,000

Slika 19: Koordinatne točke ROC krivulje



Graf 4: ROC krivulja za Giemsa test

ROC krivulja za Giemsa test je skladna z levo in zgornjo stranico grafa, saj se podatki obeh testov prekrivajo. Če HUT test predstavlja realnost okužbe s HP, potem Giemsa test 100 % zazna vse okužene s HP in izloči posameznike, brez okužbe.

5.5.2. Specifičnost in občutljivost dihalnega testa

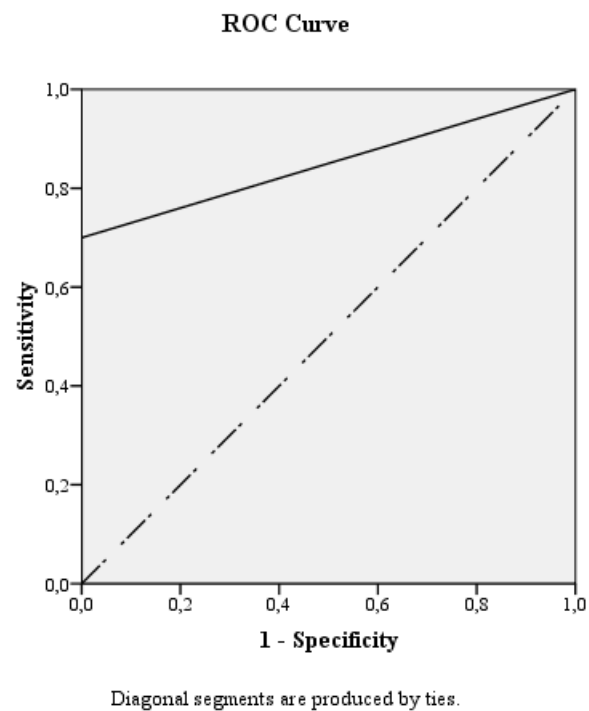
Area	Std. Error ^a	Asymptotic 95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
,850	,115	,550	,977

Tabela 20: Vrednost območja pod krivuljo.

Iz tabele je razvidno, da znaša vrednost območja pod krivuljo pri dihalnem testu 0,85. Če bo izbran posameznik imel prisotno okužbo s HP (kot jo zazna HUT test) potem bo takega posameznika v 85 % dihalni test s sečnino rangiral višje kot posameznika brez okužbe.

Positive if Greater Than or Equal To ^a	Sensitivity	Specificity
≥ 0	1,000	,000
0	,700	1,000
1	,000	1,000

Tabela 21: Koordinatne točke ROC krivulje



Graf 4: ROC krivulja za dihalni test

Ker dihalni test 3 bolnikov z okužbo ni zaznal, ima slabšo občutljivost. Specifičnost ima enako kot HUT, saj pri tem testu ni bilo zmotnih alarmov.

6 RAZPRAVA

Karcinom želodca je ena najpogostejših oblik raka in je velik svetovni zdravstveni problem. V Sloveniji letno zbolijo 482 ljudi. V raziskavi smo analizirali 56 bolnikov s to vrsto raka. Povprečna starost preiskovanih bolnikov je bila 66, 23 let. Rezultati analiz so pokazali, da je moški spol bolj izpostavljen obolenju kot ženski, ter da je povprečna starost obolelih moških višja od povprečne starosti obolelih žensk. Iz histograma, ki prikazuje razporeditev starostnih skupin je vidno tudi, da v nobenem primeru starost ni razporejena po Gaussovi krivulji normalnosti.

V diplomski nalogi smo se pri bolnikih s karcinomom želodca osredotočili na delež okužbe bolnikov s HP. Bakterija HP je vpletena v nastanek velikega števila bolezni želodčne sluznice. Je povzročiteljica kronični želodčnih vnetij, razjede na dvanajstniku in želodcu in je tudi eden izmed dejavnikov, ki povzročajo raka na želodcu. Glede na visok odstotek okužene populacije z bakterijo, nas je zanimalo koliko bolnikov s karcinomom želodca ima okužbo prisotno. V raziskavi je bila prisotna v 17,9 % primerih bolnikov. V 70 % so bili okuženi moški in v 30 % ženske. Pri teh bolnikih je bil v 60 % prisoten intestinalni tip karcinoma, za katerega je značilno, da se razvije iz okužbe s HP. Približno pri 1% vseh okuženih pri katerih se že v začetku okužbe razvije izrazit aktivni kronični gastritis želodca, lahko skozi desetletja preko atrofije, intestinalne metaplazije in displazije razvije intestinalna oblika želodčnega raka. V raziskavi je bilo vnetje prisotno pri vseh HP pozitivnih bolnikih s karcinomom, intestinalna metaplazija v 60 % ter atrofija v 70 % primerih. V 80 % primerih pa sta prisotni tudi hipertrofija in hiperplazija sluznice.

Pri ostalih bolnikih pa se je pojavljala mešana oblika, ki ni dobro difirencirana. Tudi pri bolnikih, ki nimajo prisotne okužbe je intestinalni tip karcinoma najpogostejši, pojavi se v 60,9 % primerih, enako pogosto, v 39,1 %, se pojavljata difuzni ter mešani tip karcinoma. Najpogostejši del želodca, v katerem se karcinom razvije je antrum, manj pogosto pa se razvije v korpusu ter v kardiji, redko pa se hkrati pojavi na večih lokacijah v želodcu. Pri bolnikih, brez okužbe, je antrum prav tako najpogostejši del želodca, kjer je karcinom lokaliziran, pogosto se pojavi tudi v korpusu, redkeje na večih lokacijah hkrati.

Za določitev okužbe s HP smo uporabili tri najpogosteje uporabljene diagnostične teste, pri čemer smo predpostavili, da je hitri ureazni bioptični test 100 % zanesljiv, histološko barvanje z metodo po Giemsi ter dihalni test s sečnino, pa smo želeli ovrednotiti kako specifična in občutljiva sta glede na HUT test. S histološkim barvanjem z metodo po

Giemsi smo dobili enake rezultate kot s HUT testom, tako lahko sklepamo, da je enako zanesljiv diagnostični test. Dihalni test s sečnino pa v treh primerih okužbe ni zaznal, medtem ko jo HUT test je, zato ima slabšo občutljivost. Specifičnost je enaka, saj pri tem testu ni bilo zmotnih alarmov.

Naši rezultati se skladajo z znanimi študijami, le delež okužbe je nižji, za kar smo predvidevali, da so bolniki že po antibiotični terapiji.

7 SKLEPI

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti kako je bakterija HP povezana z razvojem karcinoma na želodcu, oziroma kakšen je delež okužbe pri bolnikih s karcinomom.

Na podlagi rezultatov lahko zaključimo naslednje:

Bakterija HP je odgovorna za od 65%-80% rakov na želodcu, vendar sama bakterija privede do razvoja karcinoma le pri 1%-2%. Je eden izmed pomembnih dejavnikov, ki vplivajo na razvoj karcinoma želodca. Poleg okužbe so pomembni dejavniki še genetska podlaga, dejavniki okolja, prehrana ter način življenja. Odvisno je tudi s katerim sevom bakterije je bolnik okužen, saj pri določenih sevih poteka okužba brez simptomov.

Posebej hudo je tveganje zaradi okužbe s HP v otroštvu, saj povzroči v teku življenja atrofični gastritis in atrofijo želodčne sluznice, ki prek intestinalne metaplazije in displazije prehaja v rak. Zdravljenje okužbe zato pomeni tudi preprečevanje želodčnega raka.

Pri HP pozitivnih bolnikih se najpogosteje razvije intestinalni tip karcinoma želodca, ki je pretežno bolj diferenciran, se pogosteje pojavlja pri starejših bolnikih in ima boljše prognozo. Redkeje se pojavi mešana oblika raka, ki je mešanica med difuznim in intestinalnim tipom. V drugo skupino spada difuzni tip raka, ki je slabše diferenciran, ima slabšo prognozo in je pogostejši pri mlajših bolnikih. Difuznega tipa raka pri naših HP pozitivnih bolnikih ni bilo.

Pri bolnikih s karcinomom, ki nimajo prisotne okužbe s HP se pojavljajo vse tri oblike karcinoma. Prav tako je najpogostejši intestinalni tip, enako pogosto se pojavljata mešana in difuzna oblika raka.

Najbolj pogosto se karcinom želodca razvije v spodnji tretjini želodca.

Karcinom želodca nekoliko pogosteje prizadene moški spol, pri obeh spolih se bolezen začne po 40 letu starosti z vrhom med 60 in 80 letom starosti.

Prisotnost bakterije HP ugotavljamo z različnimi invazivnimi in neinvazivnimi diagnostičnimi metodami. Hitri ureazni bioptični test ter histološko barvanje z metodo po Giemsi sta dobro specifična ter občutljiva testa, dihalni test s sečnino pa je nekoliko slabše občutljiv, vendar je enako dobro specifičen kot HUT ter histološko barvanje.

Glede na majhen delež okuženih je verjetno večina bolnikov že po antibiotični terapiji, tako imajo bakterijo že eradikirano. Proces od okužbe do razvoja karcinoma lahko traja več desetletij. Ker pa v naši raziskavi nismo spremljali bolnikov od odkritja karcinoma ter okužbe z bakterijo, nismo dobili podatka koliko bolnikom so že zdravili okužbo s HP. Zato predvidevamo, da bi bil delež okužbe s HP pri bolnikih s karcinomom želodca večji.

Menim, da bi bilo potrebno uvesti populacijsko presejanje okuženosti z bakterijo HP, saj je vedno več jasnih dokazov o povezanosti bakterije z razvojem karcinoma na želodcu. Tako bi lahko pripomogli k zgodnejšemu odkrivanju bakterije ter njenemu zdravljenju in s tem preprečili nastanek karcinoma želodca.

8 LITERATURA

1. Parkin DM. Interational variation. *Oncogene* 2004; 23: 6329-40.
2. Žakelj PM, Bračko M, Hočevnar M, Pompe KV, Strojani P, Zadnik V, Zakotnik B, Incidenca raka v Sloveniji v letu 2005, Onkološki inštitut Ljubljana, Register raka za Slovenijo, 2008.
3. Correa P, Haenszel W, Cuello C. A model for gastric cancer epidemiology, *Lancet* 1975, 2: 58-60.
4. Tepeš B, Ali je mogoče preprečiti nastanek raka želodca. *Gastroenterolog, letnik 12, suplement 2*, 2008:34-35.
5. Kocijančič A, Mrevlje F, *Interna medicina, DZS* 1998: 365-372
6. Barovič V, *Patološka fiziologija in osnove interne medicine*, 1999:168
7. Cerar A, Luzar B, Rott T, Zidar N, *Patologija, Katedra za patologijo medicinske fakultete*, 2006:270-271.
8. Koufman JA, Dettmar PW, Johnston N. Laryngopharyngeal reflux, *ENT News* 2005; 14:42-5.
9. Markovič S. Ekstraesofagealni simptomi gastroezofagealnega refluksa, *Gastroenterolog* 2002, 1:22-6.
10. Hirota W.K., Zuckerman M.J, Alder D.G., ASGE guideline: the role of endoscopy in the surveillance of premalignant conditions of the upper GI tract. *Gastrointest Endosc*, 2006; C3 570-80.
11. Kumar V, Cotran VS, Robbins SL., *Basic pathology*, 5.izdaja, Saunders 1992
12. Tepeš B, *Medicinski razgledi, letnik 43, št. 3*: 261-263.
13. Gubina M, Ihan A, *Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo, Ljubljana, Medicinski razgledi* 2002: 221-223.
14. Tepeš B, Atipični simptomi in znaki GERB-a, *Zdravniški vestnik, Ljubljana, letnik 75, marec 2006*, 75:247-51.
15. Pharoah PD, Guilford P, Coidas C., Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families, *Gastroenterology* 2001;121:1348-53.
16. Caldas C, carneiro F, Lynch HT, Yokota J, Wiesner GL, Powell SM, Lewis FR., *Familial gastric cancer, Med Genet.* 1999;36: 873-80.
17. Parsonnet J, HP and gastric cancer, *Gastroenterology Clinical north America* 1993; 22:89-104.

18. Houghton J, Stoicou C, Nomura S, Gastric cancer originating from bone marrow derived cells., Science 2004;306:1568-71.
19. Diagnostični center Bled, Protokol dela v histološkem laboratoriju, 2007: 3
20. Osredkar J, Dihalni test s sečnino-njegovo mesto v diagnostiki;Zdravstveni vestnik 2004;73:13-7.
21. Tepeš B, Primerjava dveh ureaznih bioptičnih testov za dokaz okužbe s HP pred antimikrobnim zdravljenjem, Zdravstveni vestnik 2003; 72:503-5.
22. Tepeš B, Ali je mogoče preprečiti nastanek raka želodca, Gastroenterolog, letnik 12, oktober 2008:37.
23. www.upload.wikimedia.org/240px-IIIV-stomach.jpg.
24. Urlep D, Endoskopsko spremljanje premalignih lezij v prebavilih, Gastroenterolog, letnik 12, oktober 2008:100.
25. www.mf.uni-mb.si/slike/gradivo/patologija
26. Tepeš B:HP; Krka Med Farm 1999;20,suppl1.

