

Utjecaj eradikacije *Helicobacter pylori* i čimbenika virulencije na promjenu premalignih obilježja sluznice želuca

Filipec Kanižaj, Tajana

Doctoral thesis / Disertacija

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:223795>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-12**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Tajana Filipec Kanižaj

**Utjecaj eradikacije *Helicobacter pylori* i
čimbenika virulencije na promjenu
premalighnih obilježja sluznice želuca**

DISERTACIJA

Zagreb, 2009

Disertacija je izrađena na Odjelu gastroenterologije i hepatologije i Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KB Merkur Zagreb te Kliničkom zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju KBC Zagreb.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Miroslava Katičić

Zahvaljujem se prvenstveno svojoj mentorici Prof. dr. sc. Miroslavi Katičić na podršci i korektnom vođenju u izradi ove disertacije.

Zahvalna sam svim djelatnicima i svojim kolegama Odjela za gastroenterologiju i hepatologiju, Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KB Merkur Zagreb i Kliničkog zavoda za kliničku i molekularnu mikrobiologiju KBC Zagreb koji su mi na bilo koji način pomogli u izradi ovog rada.

Rad posvećujem svojoj obitelji.

SADRŽAJ

1. DOSADAŠNJE SPOZNAJE	5
1.1 Čimbenici virulencije bakterije <i>H. pylori</i>	6
1.1.1 Čimbenici kolonizacije	7
1.1.2 Čimbenici perzistencije	9
1.1.3 Čimbenici indukcije bolesti	10
1.2 Patohistološka i funkcionalna obilježja normalne sluznice želuca	17
1.2.1 Pepsinogen	20
1.2.2 Gastrin	22
1.3 Patohistološke promjene povezane s <i>H. pylori</i> infekcijom	23
1.4 Premaligne i maligne patohistološke promjene sluznice želuca	26
1.4.1 Atrofični gastritis	26
1.4.2 Intestinalna metaplazija	29
1.4.3 Karcinom želuca	31
1.5 Dijagnostika patohistoloških promjena povezanih s <i>H. pylori</i> infekcijom	36
1.5.1 Sydney-ska klasifikacija gastritisa	37
1.5.2 OLGA sistem	43
1.5.3 Dijagnostičke metode u otkrivanju premalignih promjena želuca	44
1.6 Utjecaj eradikacijske terapije na prevenciju razvoja karcinoma želuca i dinamiku premalignih patohistoloških promjena	49
2. HIPOTEZA	55
3. CILJ ISTRAŽIVANJA	55
4. MATERIJALI (ISPITANICI) I POSTUPCI	56
4.1 Protokol studije	57
4.2 Ezofagogastroduodenoskopija	60

4.3 Patohistološka analiza sluznice želuca	61
4.4 Western blot	62
4.4.1 Kemikalije i uređaji	64
4.5 Određivanje razine enzima PGI, PGII i G17	65
4.5.1 Određivanje razine PGI	65
4.5.2 Određivanje razine PGII	67
4.5.3 Određivanje razine G17	69
4.6 Statistička analiza podataka	70
5. OČEKIVANI ZNANSTVENI DOPRINOS RADA.....	73
6. REZULTATI	75
6.1 Početne karakteristike ispitanika	75
6.2 Nalaz stupnjeva patohistoloških parametara nakon provedene eradikacijske terapije - kontrolni pregled u 5-oj godini.....	83
6.3 Vrijednosti razine enzima PGI, PGII, omjera PGI/II i G17 u 5 –oj godini nakon provedene eradikacijske terapije	89
6.4 Procjena statističke značajnosti dinamičnosti stupnjeva i stadija patohistoloških parametara te razine enzima u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije	93
6.5 Procjena dinamičnosti patohistoloških parametara odvojeno za bolesnike s prisutnim ili odsutnim premalignim promjenama u početnom nalazu.....	95
6.6 Uloga uspjeha eradikacijske terapije u dinamici patohistološkog nalaza u 5-godišnjem razdoblju	98
6.7 Uloga uspjeha eradikacijske terapije u dinamici razine enzima u 5-godišnjem razdoblju.....	101

6.8 Procjena statističke značajnosti dinamičnosti stupnjeva i stadija patohistoloških parametara te razine enzima u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije za eradikirane i ne – eradikirane bolesnike	103
6.9 Korelacija nalaza razine enzima i stupnjeva patohistološkog nalaza atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije	105
6.10 Dinamika stupnjeva i stadija patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije prema nalazu prisutnosti čimbenika virulencije <i>H. pylori</i>	110
6.11 Dinamika stupnjeva i stadija patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije prema endoskopskoj dijagnozi.....	120
6.12 Predikcija ishoda progresije patohistološkog nalaza u petogodišnjem intervalu prema početnom nalazu testiranih varijabli	123
7. RASPRAVA	125
8. ZAKLJUČCI	141
9. POPIS SLIKA.....	144
10. POPIS TABELA.....	147
11. POPIS KORIŠTENIH KRATICA.....	150
12. LITERATURA	152
13. SAŽETAK.....	177
14. ABSTRACT.....	179
15. ŽIVOTOPIS.....	181

1. DOSADAŠNJE SPOZNAJE

Spiralne bakterije zamijećene su u želucu čovjeka i životinja prvi put prije više od 100 godina, no istraživanje povezanosti s bolešću želučane sluznice započelo je tek s uspješnom izolacijom iz želučanog bioptičkog tkiva 1982. godine^{1,2} U početku je ta spiralna bakterija svrstana u rod *Campylobacter* i dobila naziv CLO (*Campylobacter-like organism*), a potom *Campylobacter pyloridis*. U novi rod, *Helicobacter*, bakterija je smještena 1989. godine. U navedenom rodu je sada svrstano više od 23 vrsta, od toga 7 adaptiranih na želudac čovjeka, 15 na crijevo čovjeka, a 1 je pronađena na obje lokalizacije. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) kolonizira želučanu mukozu, kao što i drugi tipovi bakterije iz roda *Helicobacter* koloniziraju želučane sluznice drugih sisavaca.³ Bakterija ima specifičan tropizam prema želučanoj sluznici, a primarno se nalazi u antrumu želuca. Međutim, može se naći i u fundusu želuca, u dvanaesniku na mjestima želučane metaplazije, kao i na mjestima sa želučanim ektopičnim epitelom u jednjaku, Meckelovom divertiklu i rektumu.

H. pylori je gram-negativni, asporogeni, kratki, zavinuti štapić. U tkivu i svježoj kulturi javlja se u obliku dvostrukog zareza ("galebova krila") ili kraćih spirala, a u starijoj kulturi (ponekad i u tkivu) može biti i posve ravan te u obliku nepravilnih, krupnih koka. Širok je 0,3 do 1,0 μ , a dugačak 1,5 do 10,0 μ . Pokretan je, s multiplim bičevima koji imaju ovojnica, smještenima samo na jednom polu. *H. pylori* je mikroaerofilna bakterija.⁴

Nakon više od 25 godina istraživanja *H. pylori* je dokazani karcinogen I reda.⁵ Prema rezultatima epidemioloških studija bakterija je prisutna u 60,4% odrasle

hrvatske populacije.⁶ Infekcija je povezana s povećanim rizikom pojave peptičkog ulkusa, želučanog adenokarcinoma te MALT (*engl.* mucosa associated lymphoma) limfoma želuca.^{2,7,8} Izolirana je u 90-95% bolesnika s duodenalnim ulkusom, 70% želučanim ulkusom, te 87-100% bolesnika s niskomalignim MALT limfomom i karcinomom želuca.

Iako svi inficirani razviju upalnu reakciju sluznice želuca (gastritis), samo 20% razvije ulkusnu bolest, a 1-3% želučani karcinom.⁹ Opseg i težina inflamacije sluznice i klinički ishod infekcije ovise o mnoštvu faktora. Među njima najznačajniji su čimbenici virulencije bakterije, domaćinova genetska predispozicija, imunološki odgovor domaćina, dob domaćina u vrijeme stjecanja infekcije te faktori okoline. Upoznavanjem složenog odnosa navedenih faktora pokušava se razjasniti zašto samo manjina (1-3%) inficiranih u konačnici razvije karcinom želuca. Na neke od navedenih faktora, zadanih osobinama domaćina i bakterije ne možemo utjecati. Ipak, pravovremenom dijagnostikom infekcije i prepoznavanjem ključnih patogenetskih mehanizama (koji dovode do značajnih patoloških promjena) mogli bi se na vrijeme utvrditi bolesnici kod kojih je osim eradikacije bakterije potrebna i dodatna dijagnostička obrada i praćenje zbog mogućnosti razvoja maligne bolesti.

1.1 Čimbenici virulencije bakterije *H. pylori*

Od otkrića *H. pylori* istraživanja su usmjerena k otkrivanju čimbenika virulencije bakterije i njihovoj povezanosti s pojedinim bolestima probavnog trakta.¹⁰ U širem smislu svaki čimbenik koji omogućava postojanost bakterije na sluznici može se smatrati čimbenikom virulencije. Međutim, radi razumijevanja patogenetskog značaja pojedinih čimbenika virulencije potrebno ih je podijeliti u zasebne skupine.

Da bi *H. pylori* djelovao kao patogen, najprije mora kolonizirati sluznicu želuca, potom se na njoj održati i napokon inducirati bolest. Stoga čimbenike njegove virulencije zbog preglednosti dijelimo u tri skupine:

- čimbenike kolonizacije
- čimbenike perzistencije
- čimbenike indukcije bolesti.¹¹

1.1.1 Čimbenici kolonizacije

U čimbenike kolonizacije ubrajamo:

- čimbenike **pokretljivosti**,
- enzim **ureazu**,
- indukciju privremene **hipoklorhidrije**,
- **ATP-azu P-tipa**
- **adhezine**.

Ureaza je enzim na površini stijenke bakterije koji bitno, kao i čimbenici privremene hipoklorhidrije, utječe na smanjenje kiselosti neposredno u okolini bakterijske stanice. Na taj način omogućeno je preživljavanje bakterije u kiseloj okolini i lakši prolaz bakterije kroz želučanu sredinu. Pronađena su još dva proteina bitna za *in vivo* kolonizaciju: gama-glutamyl-transpeptidaza (GGT) i UreI protein.^{12,13}

Poznato je nekoliko adhezina među proteinima vanjske membrane stanične stjenke (BabA, AlpA, AlpB) koji adheriraju na Lewis B antigen krvne grupe i još neke nepotpuno definirane receptore na epitelu koji sadrže proteine, glikolipide, glikoproteine i fosfolipide, kao i kolagen, vibronektin i laminin. Zajedno čine grupu proteina vanjske membrane (*engl. Helicobacter-specific Outer membrane Proteins; Hop proteins*). Kodira ih skupina 30-ak povezanih gena.¹⁴ Ulogu adhezina može imati i bakterijski lipopolisaharid te nekoliko lipoproteina. Dva najbolje istražena adhezina su BabA (Hop S) i OipA (Hop H). Proteini BabA i Alp nisu eksprimirani u svima sojevima *H. pylori*.

Glikokonjugati predstavljaju šaroliku skupinu motiva koji značajno variraju u različitim vrstama i pojedinim tkivima. Antigeni krvne grupe jedan su od predstavnika glikokonjugata. Interes u proučavanju Lewis (Le) antigena *H. pylori* proizlazi iz rezultata istraživanja kojima je dokazano da se bakterija veže za stanicu domaćina putem Le^b antigena krvne grupe. Naknadno je otkriveno da bakterija proizvodi kompleks površnih ugljikohidrata povezanih s lipopolisaharidima. Među njima dominiraju Le^x i Le^y antigeni, a rjeđe se mogu pronaći i antigeni Le^a i Le^b. Stoga i bakterija i domaćin eksprimiraju na staničnoj površini antigene krvne grupe. Uloga navedenih antigena krvne grupe istražena je u brojnim studijama.^{15,16} Od specijalnog interesa je odnos antigena krvnih grupa domaćina i ishoda infekcije obzirom na činjenicu da je značajna proporcija Le^x i Le^y antigena eksprimiranih od strane bakterije identična Le fenotipu antigena domaćina.¹⁷ Činjenica da Le antigeni bakterije induciraju detektibilni imunološki odgovor specifičnim protutijelima, dovodi do zaključka da postoji mogućnost stvaranja protutijela na antigene koje posjeduje i sam domaćin. Patogen koji eksprimira antigen jednak domaćinovim antigenima može

imati dvojaku ulogu. Jedna od njih je poticanje tolerancije na vlastito. Međutim, kod želuca nije dokazano da se tolerancija stvara na razini želučane sluznice. Drugo zbivanje može biti poticanje autoreaktivnosti. Istraživanja na životinjama i humanim materijalima su pokazala da postoji dostatna molekularna mimikrija između antigena *H. pylori* i antigena stanica želučane sluznice što može objasniti nastajanje autoantitijela i posljedično gastritisa. U mišjim modelima dokazanu su antitijela koja prepoznaju Le^{xy} antigen i unakrsno reagiraju s β-lancom želučane H⁺,K⁺ - ATPaze lokaliziranom u kanalikulima parijetalnih stanica korpusa želuca. Dokazana su i autoantitijela u humanim materijalima, a jedan od ciljeva su im parijetalne stanice.¹⁸ Međutim, ta specifična antitijela na H⁺,K⁺ - ATPazu ne reagiraju s antigenima *H. pylori* pa je njihova uloga nejasna. Podjednako ostaje nejasan ciljni antigen stanica želuca s kojima autoantitijela inducirana od strane *H. pylori* reagiraju.¹⁹

1.1.2 Čimbenici perzistencije

Među čimbenike perzistencije bakterije ubrajamo:

- enzim **ureazu**,
- **HspA** (*engl.* heat shock protein A),
- čimbenike **pokretljivosti**,
- **katalazu**,
- **superoksid-dismutazu (SOD)**,
- receptor za **laktoferin**,...

Obzirom na ulogu u osiguravanju trajno povoljnog pH u neposrednoj okolini bakterije, osim za kolonizaciju, ureaza je presudna za postojanost *H. pylori* na želučanoj sluznici. Sedam gena uključeno je u regulaciju stvaranja i aktivnosti enzima

ureaze (550 kDa).²⁰ Dva gena, *ureA* i *ureB* kodiraju strukturalne podjedinice UreA (26.5 kDa) i UreB (60.3-61.6 kDa). U gradijentu pH bakterija će ili pronaći optimalni pH, maksimalno kolonizirati sluznicu i eksprimirati virulentne faktore ili biti izložena stresu kiselog medija i kao reakciju osloboditi nove proupalne citokine. U oba slučaja biti će izražen jači upalni odgovor.

Protein HspA pojačava ulogu ureaze dajući joj nikal potreban za enzimsko djelovanje. Proučavanjem indukcije ekspresije gena u kiselom mediju uočena je pojačana ekspresija gena za Hsp70, *cagA*, *flaA*,...²¹ Značajan čimbenik perzistencije u sloju viskozne sluzi je i motilitet. Katalaza i superoksid-dismutaza (SOD) koje proizvodi bakterija djeluju nepovoljno na fagocite, a receptor za humani laktoferin omogućava bakteriji uzimanje dovoljne količine željeza te na taj način utječe na njenu postojanost.¹¹

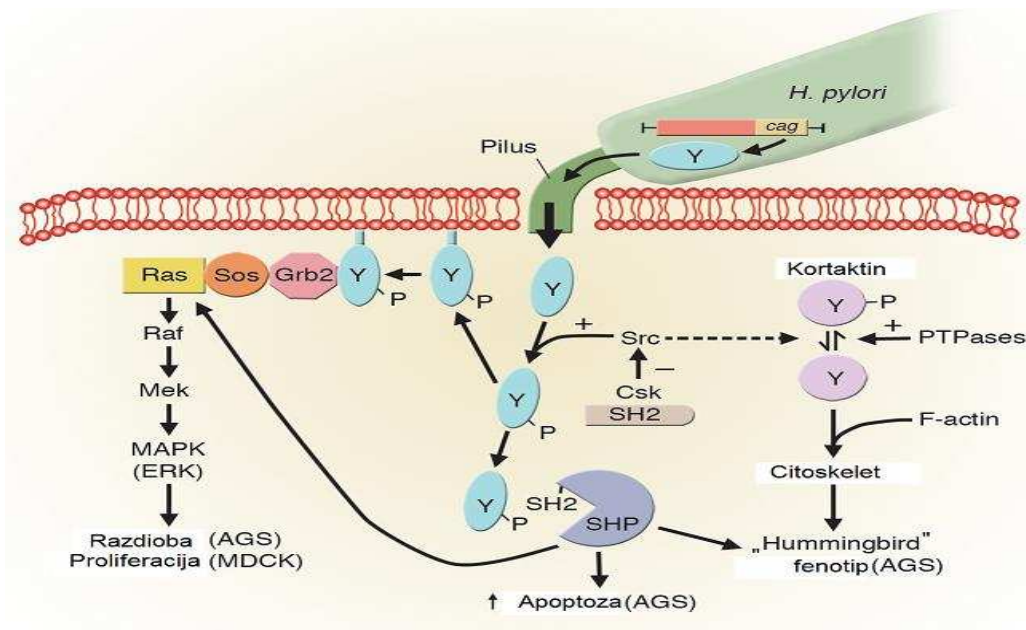
1.1.3 Čimbenici indukcije bolesti

Do sada je poznato više čimbenika indukcije bolesti od strane bakterije. Među njima potrebno je izdvojiti:

- **vakuolizirajući citotoksin (VacA)**
- **produkte gena otoka patogenosti cag-PAI** (*engl.* cytotoxin pathogenicity island)
- **HspA i HspB,**
- **enzime ureazu, mucinazu i fosfolipazu,**
- **N-metil-histamin,**
- **medijatore upale,**

- **produkt gena ice A.**

Najbolje istraženi čimbenik virulencije bakterije je protein CagA (*engl.* cytotoxin associated antigen). Dokazana je njegova uloga u regulaciji staničnih procesa, proliferaciji i apoptozi.²² Indukcijom ekspresije protoonkogeni *c-fos* i *c-jun* aktivacijom MAP-kinaza²³, aktivacijom signalnog puta nuklearnog faktora-kapa B i aktivator proteina-1 (AP-1)^{24,25,26,27}, mutacijom *p53*²⁸, te izbjegavanjem aktivacije enzima koji neutraliziraju reaktivne metabolite kisika^{29,30} objašnjava se kancerogeni potencijal CagA pozitivnih sojeva. Aktivacijom signalnih putova dolazi do aktivacije imunomodulatornih gena. Sam CagA protein je *in vivo* povezan s jače izraženom upalom i stimulacijom sekrecije IL-8 i drugih proupalnih citokina (IL-1 α i β)^{31,32}, te pojačanom neutrofilnom infiltracijom sluznice želuca^{33,34,35}. Slika 1 prikazuje patogenetske procese povezane s proteinom CagA.



Slika 1. Patogeneza promjena povezanih s proteinom CagA.

Obzirom na prepoznate patogenetske mehanizme povezane s prisutnošću proteina CagA njegova prisutnost pokušala se povezati i s različitim patohistološkim promjenama sluznice želuca te kliničkim dijagnozama. Učestalost specifičnih antitijela za CagA češća je u bolesnika s utvrđenim ulkusom. Slična seroprevalencija dokazana je i kod B-staničnog limfoma³⁶ te adenokarcinoma želuca.^{37,38} CagA seropozitivitet snažno je povezan s rizikom nastanka želučanog karcinoma (OR 1,91-10,1).^{42,39,40,41} U inficiranih s CagA pozitivnim sojem bakterije *H. pylori* i pozitivnom obiteljskom anamnezom može se očekivati 8 puta veći rizik od nastanka karcinoma želuca. Stoga je navedena kombinacija predložena kao vrijedan parametar u probiru populacije za bolesnike s povećanim rizikom karcinoma želuca.³⁹

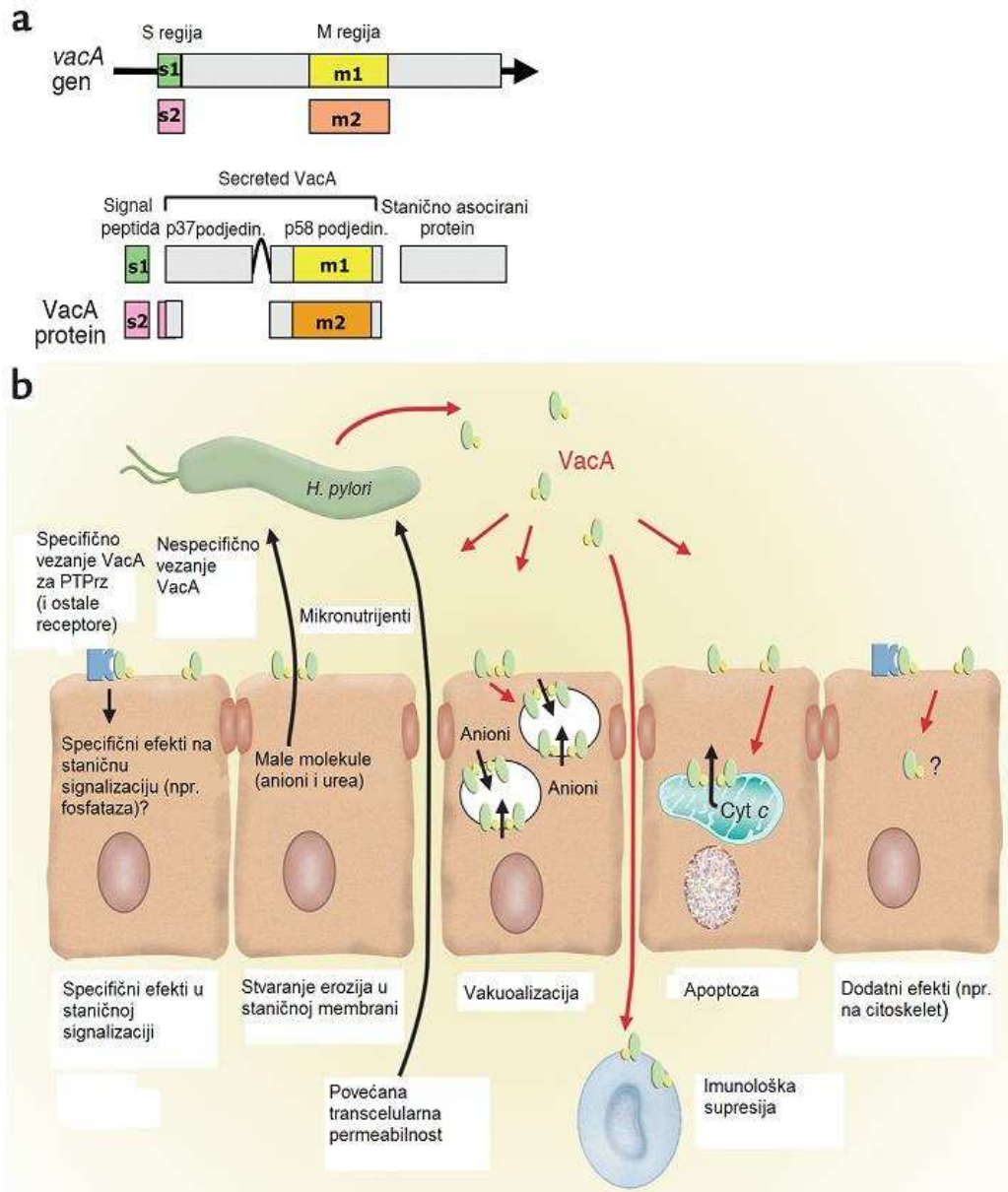
Molekularne epidemiološke studije ukazuju da *cagA* pozitivni sojevi *H. pylori* značajno povećavaju rizik razvoja atrofije želučane sluznice.^{42,43,44,45,46} Dok prisutnost

cagA može signalizirati pojačanu predispoziciju za razvoj težih kliničkih oblika bolesti⁴⁷, mnoštvo faktora poglavito zemljopisne varijacije u genotipovima mogu ograničiti vrijednost *cagA* i ostalih markera virulencije kao indikatora patogenosti sojeva.^{48,49,50,51,52,53} U ispitivanju *Kikuchi i au.* dokazano je da su i CagA pozitivni i negativni sojevi *H. pylori* povezani s intestinalnim i difuznim tipom karcinoma želuca rane i poodmakle faze. U ispitivanju na mlađim bolesnicima sa želučanim karcinomom u talijanskoj populaciji pronađena značajna povezanost prisutnosti karcinoma s *cagA* pozitivnom infekcijom, ali ne i u japanskoj populaciji.⁵⁴ U mnogim istraživanjima utvrđena je infekcija s miješanim sojevima bakterije ukazujući na genetičku nestabilnost navedene regije. Dokazano je i da tip populacije bakterija i gustoća infekcije utječu na ishod infekcije.⁵⁵ S druge strane utjecaj uspješne eradikacije CagA pozitivnih sojeva bakterije na prevenciju razvoja karcinoma još je neistražen. Praćenjem bolesnika s premaligim promjenama uočeno je da je infekcija *cagA* pozitivnim sojevima povezana je s većim rizikom progresije premaligih promjena u odnosu na kontrolnu skupinu. Međutim, ta razlika nije se dokazala statistički značajnom.⁵⁶

Prvi opisani čimbenik virulencije *H. pylori* 1988. godine bio je toksin VacA.⁵⁷ Samo približno 50% sojeva *H. pylori* je toksično zbog prisutnosti vakuolizirajućeg citotoksina (Tox⁺) iako svi sojevi posjeduju gen *vacA*. Veza između produkcije citotoksina i teških oblika bolesti postaje sve jasnija u Europi i Sjevernoj Americi (rasprostranjenost VacA proteina je oko 40%), ali ta povezanost nije tako nedvosmislena u Aziji (rasprostranjenost VacA proteina je oko 70% u Japanu).⁵⁸ Na Slici 2 su prikazani patogenski mehanizmi povezani s *H. pylori* infekcijom. Poznate su različite kombinacije signalnih (s) i srednjih sekvenci (m, *engl.* middle). Signalne

sekvence determiniraju jačinu citotoksičnosti, a m regije staničnu specifičnost. Utvrđena su četiri tipa signalnih sekvenci *s1a*, *s1b*, *s1c*, *s2* i dva tipa sekvenci srednje regije *m1* i *m2*.^{59,60} *In vivo* od osobite važnosti je genotip *vacA* prisutan u soju inficirane osobe. Sojevi s *vacA m1* toksičniji su od *vacA m2* (srednje toksični ili netoksični). Različita toksičnost postoji i u skupini s *m1* sojevima: Sojevi sa *s1a/m1* alelima su toksičniji od sojeva sa *s1b/m1*.^{61,62,63,64} *vacA* signalne sekvence se povezuju s razinama infiltracije upalnih stanica u mukozi. Sojevi s *vacA s1a* alelima uzrokuju jaču upalu, gušće rastu i koloniziraju veća područja želučane sluznice od sojeva sa *s1b* ili *s2* alelima.¹¹ Sojevi s alelima *s2m2* ne produciraju detektibilnu toksičnu aktivnost. U serumu inficiranih osoba dokazana su protutijela na toksin. ELISA-om su dokazana protutijela u bolesnika inficiranih sa sojevima koji produciraju toksin u većem omjeru od bolesnika inficiranih sojevima koji ne produciraju toksin.^{65,66}

Provedene su mnoge prospektivne studije s ciljem utvrđivanja koristi od genotipiziranja *vacA* u predikciji ishoda infekcije.⁶⁷ Meta analizom podataka dobivenih iz studija provedenih u Europi, Aziji i SAD utvrđeno je da se genotipizacijom *vacA* ne mogu pretskazati simptomi i klinička prezentacija bolesti, odgovor na terapiju i stupanj upalne reakcije. U rezultatima tih studija pokazalo se da je u većini zemalja prisutnost *vacA s1* genotipa povezana s prisutnošću gena *cagA*.^{68,69,70}



Slika 2. Patogenetski mehanizmi povezani s proteinom VacA.

Unatoč mnogim pokušajima značaj ranije navedenih čimbenika virulencije za razvoj pojedinih bolesti ili dinamike premalignih patohistoloških promjena nije jednoznačno definiran.

1.1.3.1 Imunobloting u detekciji čimbenika virulencije bakterije *H. pylori*

Imunobloting je metoda pogodna za proučavanje imunološkog odgovora na različite antigene *H. pylori*. Inicijalno su imunoblot kitovi razvijeni u pojedinim laboratorijima (*engl.* in house) zbog potrebe testiranja u znanstvene svrhe. Kasnije su se razvili komercijalni kitovi s definiranim antigenima koji su spremni za inkubaciju. Time je smanjeno vrijeme potrebno za provedbu testa i reducirana potreba za specijalnom opremom. Istovremeno su i rezultati studija u kojima su primijenjeni postali komparabilniji.

Western blot je visoko specifična i osjetljiva metoda (više od 90%).^{71,72,73,74,75,76,77,78} Predstavlja metodu izbora u osoba kod kojih nije postignut imunološki odgovor mjerljiv ELISA-om. Obzirom na mogućnost testiranja prisutnosti antitijela na *H. pylori* specifične antigene koristi se i za testiranje sumnje na lažno pozitivan rezultat dobiven primjenom drugih seroloških metoda (npr. kada primijenjeni antigen u ELISA testu nije dovoljno specifičan).

Prednost Western blot metode, u odnosu na ostale serološke metode, je u mogućnosti istovremenog testiranja prisutnosti serološkog odgovora na više različitih specifičnih antigena od kojih su mnogi čimbenici virulencije bakterije (p120 (CagA), p95 (VacA), p75, p67 (flagelin), p66 (UreB), p57 (HSP homolog-*engl.* heat shock protein homolog), p54, p50, p41, p33, p30 (OMP- *engl.* outer membrane protein), p29 (UreA), p26, p19 (OMP) i p17).

1.2 Patohistološka i funkcionalna obilježja normalne sluznice želuca

Topografski i funkcionalno se želudac dijeli na četiri cjeline:

1. kardija
2. fundus
3. korpus
4. antrum (i pilorus).

Sluznica želuca sastoji se od površinskog epitela koji se različito duboko utiskuje u laminu propriju čineći tako želučane jamice. U njih se otvaraju razgranate tubularne žlijezde (kardijalne, specifične i pilorične) karakteristične za svaku anatomsku cjelinu. U lamini propriji, koja čini vezivnotkivu sastavnicu, nalaze se retikulinska te nešto elastičnih i kolagenih vlakana, kapilarna mreža, arteriole, limfatični prostori, nemijelizirana živčana vlakna i stanična populacija fibroblasta, glatkih mišićnih stanica, histiocita, rijetkih B limfocita te pokoji neutrofilni granulocit. Većinom intraepitelno, prisutan je i manji broj T limfocita (CD8).

Patohistološki su fundus i kardija (zona unutar 2 cm ispod ezofagogastrične spojnice) istovjetni te čine jednu cjelinu. Unutar lamine proprije nalaze se jednostavne i razgranate tubularne žlijezde koje stvaraju sluz i lizozim. Mukoza je slična po žlijezdama antralnoj sluznici, ali ovdje nema G stanica.

Lamina proprija korpusa puna je razgranatih tubularnih tzv. specifičnih žlijezda od kojih se 3-5 zajedno otvaraju u jednu želučanu jamicu (oksentična mukoza). U vratu specifičnih žlijezda nalaze se nediferencirane, obložne i mukozne stanice, dok

se u bazalnom dijelu nalaze obložne, glavne (zimogene) i enteroendokrine stanice. Nediferencirane stanice su malobrojne, niske, cilindrične i vrlo brzo se dijele. Diferencijacijom se pomiču prema gore i nadomještaju propale mukozne stanice na površini sluznice i u jamicama. Druge se premještaju dublje u žlijezde i diferenciraju u mukozne stanice vrata te u obložne, glavne i enteroendokrine stanice. Mukozne stanice vrata želučanih žlijezda su stanice prekursori iz kojih se nadomještaju mukozne stanice površine sluznice te obložne (parijetalne), glavne i endokrine stanice. Njihov se produkt sekrecije znatno razlikuje od produkta mukoznih stanica na površini. Obložne (parijetalne) stanice najbrojnije su u gornjoj polovini želučanih žlijezda, a glavna im je uloga stvaranje želučane kiseline, te unutarnjeg čimbenika (*engl.* intrinsic factor). Glavne (zimogene) stanice najbrojnije su u donjim dijelovima želučanih žlijezda te imaju bazofilnu citoplazmu. Stvaraju pepsinogen I i II te lipazu. Enteroendokrine stanice nalaze se blizu baza želučanih žlijezda, stvaraju 5-hidroksitriptamin (serotonin), gastrin, histamin i glukagon.

U antralnoj (pilorusnoj) mukozi nalaze se razgranate i spiralne žlijezde. Obložene su mukoznim, endokrinim stanicama tipa G i D i ponešto parijetalnim stanicama. Mukozne stanice luče mucin koji ima zaštitnu ulogu od sastojaka hrane, želučane kiseline te probavnih enzima. Endokrine stanice tipa G luče gastrin. Endokrine stanice tipa D luče somatostatin snažan inhibitor lučenja gastrina i želučane kiseline. U manjoj količini u antralnoj sluznici nalaze se i oksitične stanice koje luče pepsinogen II.

U Tabeli 1 prikazana su obilježja egzokrine funkcije želučane sluznice prema anatomskim područjima.

Tabela 1. Egzokrina funkcija želučane sluznice prema anatomskim područjima.

Površina (%)	Egzokrine stanice	Produkt sekrecije
fundus i kardija (5%)	mukozne stanice vrata	mucin, PGII
oksintična mukoza (75%)	mukozne stanice vrata (40-46%) glavne stanice (40-44%) obložne (parijetalne) stanice (12-13%)	mucin, PGI i PGII PGI i PGII, leptin HCl, unutarnji faktor
pilorična mukoza (25%)	mukozne stanice vrata	mucin, PGII

U Tabeli 2 prikazana je endokrina funkcija sluznice želuca prema anatomskim područjima.

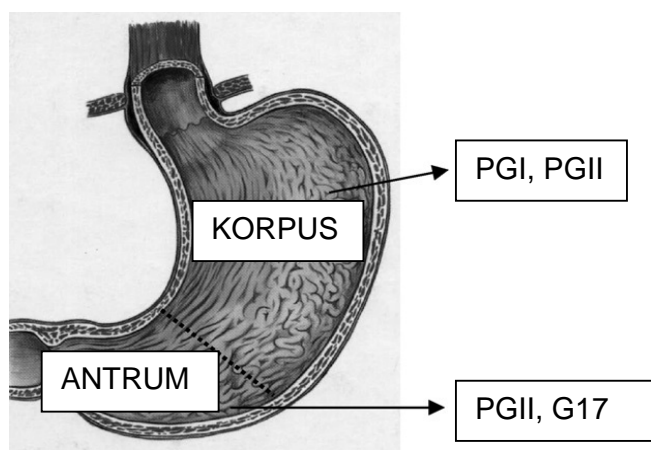
Tabela 2. Endokrina funkcija želučane sluznice prema anatomskim područjima.

Tipovi stanica	Produkt sekrecije	Oksintična mukoza	Pilorična mukoza
Enterokromafine stanice (EC)	serotonin	25%	29%
Enterokromafin nalik stanice (ECL)	histamin	35%	/
D stanice	somatostatin	26%	19%
G stanice	gastrin	/	49%
Ostale stanice	grelin, leptin	14%	3%

1.2.1 Pepsinogen

Pepsinogeni čine heterogenu grupu inaktivnih proenzima (izozimogena). Gubitkom 44 aminokiselina autokatalizom u kiselom mediju nastaje enzim pepsin zadužen za razgradnju proteina hrane u peptide. Unos hrane, gastrin i podražaj vagusa potiču lučenje pepsinogena (PG) i želučane kiseline. Lučenje PG mogu potaknuti i histamin, acetilkolin, prostangladin E, a inhibirati somatostatin. Pepsinogen stvaraju i luče glavne stanice želučane sluznice korpusa želuca te mukozne stanice žlijezda pilorične sluznice i kardije želuca.

Kod ljudi je elektroforetski otkriveno 7 izoformi pepsinogena. Prema imunoreaktivnosti prvih pet svrstano je u skupinu pepsinogena I (PGI), a preostala 2 u pepsinogen II (PGII) grupu. Navedeni izoenzimi izlučuju se na odvojenim anatomskim lokacijama u želucu. Osim toga, razlikuju se i prema pH razini na kojoj iskazuju optimalni učinak. PGI se izlučuje se iz glavnih stanica fundusa i korpusa želuca, a PGII piloričnih žlijezda, glavnih stanica korpusa želuca i duodenalnih žlijezda. U zdravih ispitanika razina lučenja PGI 6 puta je veća od razine PGII. Na prvi enzim otpada 60% pepsinske aktivnosti, a drugi 20%.⁷⁹ Obzirom da nemaju katalitičku aktivnost njihova razina može se određivati samo imnoesejima.



Slika 3. Anatomske lokalizacije lučenja pepsinogena I (PGI), pepsinogena II (PGII) i gastrina (G) u želucu.

Razina enzima PGI i omjer razina PGI/II u serumu podudaraju se s prisutnošću atrofičnog gastritisa na različitim anatomskim lokacijama sluznice želuca (Slika 3).⁸⁰ U populacijama s visokom prevalencijom atrofičnog gastritisa i karcinoma

želuca određivanje razine enzima koristi se za probir članova obitelji bolesnika s atrofičnim gastritisom i pernicioznom anemijom koji su pod povećanim rizikom od razvoja karcinoma želuca.^{81,82,83,84} Ipak, određivanjem razine PGI i omjera PGI/II, u asimptomatskoj populaciji ili u rođaka bolesnika s karcinomom želuca, ne mogu se pouzdano izdvojiti bolesnici s antrum predominantnim atrofičnim gastritisom od bolesnika s ne-atrofičnim gastritisom.

1.2.2 Gastrin

Gastrin (G) je hormon kojeg luče G stanice sluznice antruma, dvanaesnika i gušterače. Izravno i putem stimulacije lučenja histamina, gastrin potiče lučenje želučane kiseline (HCl) i unutarnjeg faktora od strane parijetalnih stanica, pepsinogena od strane glavnih stanica, te enzima gušterače. Povezuje se i s ubrzanjem želučanog motiliteta te regulacijom proliferacije želučane sluznice. Aktivni hormon nastaje cijepanjem polipeptida preprogastrina (101 aminokiselina) u progastrin (80 aminokiselina). Nakon dalje obrade luče se tri glavna oblika gastrina: gastrin- 34, -17 i -14 koji se razlikuju prema broju aminokiselina. Osnovni oblik gastrina u želučanoj sluznici je G17 i čini 90% gastrina antruma želuca. Lučenje gastrina stimuliraju želučana distenzija, stimulacija vagusa, bombesin, kalcij, GRP (*engl.* Gastrin Releasing Peptide) i djelomično probavljeni proteini poglavito aminokiseline. Inhibicija lučenja gastrina povezuje se s prisutnošću želučane kiseline, somatostatinom, sekretinom, VIP-om, epinefrinom, glukagonom i kalcitoninom.

Gastrin se može ektopično lučiti u mnogim tumorskim bolestima, ali se tada uglavnom radi o preprogastrinu i progastrinu.

Manjim dijelom navedeni hormon nalazi se i u serumu. Serumska razina enzima dobro korelira s razinom u želučanom sekretu. Razina gastrina u serumu određuje se natašte radioimunotestom ili enzimskim imunoesejom. Normalna razina u serumu iznosi 60-160 pg/mL.

1.3 Patohistološke promjene povezane s *H. pylori* infekcijom

Gastritis predstavlja upalnu reakciju sluznice želuca na bilo koje oštećenje. Otkrićem bakterije *H. pylori* utvrđen je najčešći uzročnik gastritisa. Bakterija potiče kronični upalni odgovor sluznice želuca u gotovo svih inficiranih osoba. U neliječenih bolesnika kronični gastritis traje doživotno.

Dijagnoza gastritisa temelji se na patohistološkoj analizi sluznice želuca. Morfološki se analiza nekoliko elemenata, koji ukazuju na aktivnost upalnog procesa i na posljedične promjene sluznice želuca.^{85,86,87,88} Glavno morfološko obilježje upalnog procesa je prisutnost upalnih stanica. *H. pylori* izaziva aktivaciju polimorfonukleara koji se nakupljaju u upalnom području i svojim enzimima pokušavaju ograničiti to jest odstraniti upalu, ali će istovremeno i oštetiti sluznicu želuca. Gustoća polimorfonuklera proporcionalna je s razinom oštećenja sluznice i s intenzitetom infekcije *H. pylori*. Neutrofili su vrlo osjetljiv pokazatelj prisutnosti *H. pylori* koji u cijelosti nestaje unutar par dana od eradikacije bakterije. Stoga je prisutnost neutrofila mjera za aktivnost infekcije. Kronični gastritis je "aktivan" i odsustvu neutrofila zbog aktivnosti citotoksičnih T limfocita i drugih efektornih stanica. Aktivnost tih stanica povezana je s oštećenjem sluznice i žljezdanom atrofijom.

Stanice karakteristične za kroničnu upalu dugo se zadržavaju u sluznici nakon uspješne eradikacije. Njihova prisutnost dokazana je i više godina nakon uspješno provedene terapije.

U stanjima akutne infekcije s *H. pylori* endoskopski je utvrđen razvoj akutnog neutrofilnog antralnog gastritisa. Navedeno u 50% inficiranih uzrokuje hipoklorhidriju (smanjeno lučenje želučane kiseline).⁸⁹ Inkubacija akutne infekcije traje 3-7 dana, a simptomi bolesti 2-7. Hipoklorhidrija može trajati 2-8 mjeseci. Odgovor epitela na infekciju s *H. pylori* sastoji se u depleciji sluzi, staničnoj ekfolijaciji i sincicijskim regenerativnim promjenama. Patohistološki su može utvrditi infiltracija polimorfonuklearima foveolarnog i površnog epitela, neutrofilni eksudat na površini epitela te edem lamine proprie. U nekim ispitivanjima utvrđena je podjednaka zahvaćenost i antruma i korpusa navedenim promjenama. U malog broja ljudi, pogotovo u djetinjstvu bakterijska infekcija može spontano nestati. Međutim, u većeg broja inficiranih, imunološki odgovor ne dovodi do rješavanja infekcije. Kao posljedica toga u narednih 3-4 tjedna dolazi do akumulacije kroničnih upalnih stanica i akutni neutrofilni gastritis prelazi u aktivni kronični gastritis.⁹⁰

H. pylori je prisutan u 90% bolesnika s kroničnim gastritisom. U uzorcima sluznice želuca dodatno se susreću makrofazi, limfociti i plazma stanice. Dolaskom limfocita i plazma stanica u mukozu aktiviraju se mehanizmi lučenja citokina i specifičnih anti- *H. pylori* antitijela. Dolazi do mobilizacije B limfocita u limfne folikule s produkcijom plazma stanica najčešće s funkcijom produkcije mukoznih protektivnih IgA antitijela. Taj odgovor također nije dovoljan za eradikaciju bakterije, a stalna prisutnost bakterije na sluznici očituje se formiranjem limfnih folikula te stvaranjem

organiziranog limfatičnog infiltrata u oko 95% inficiranih. Supresija akutne upalne komponente rezultira slikom inaktivnog kroničnog gastritisa (onog u kojem nema aktivnosti polimorfonukleara). Prema nekim autorima učestalost pojavljivanja limfoidnih folikula je oko 27-54%. Takve nakupine su znatno češće na maloj krivini antruma. Broja limfatičnih folikula progresivno raste od kardije prema pilorusu odnosno distalnom dijelu želuca.⁹¹ Gustoća limfoidnog infiltrata unutar lamine proprije proporcionalna je broju limfoidnih folikula u lamini propriji. Obrnuti odnos nalazi se između gustoće infiltrata neutrofila i limfoidnog infiltrata.⁹² Objašnjenje ove pojave je u kroničnoj antigenoj stimulaciji uzrokovanoj mikroorganizmima na površini sluznice želuca, a limfoidni folikuli su izraz specifičnog odgovora na *H. pylori*. Aktivacija limfatičnog tkiva u želucu povezuje se s aberantnim odgovorom na upalu uzrokovanu s *H. pylori*. U nekih inficiranih kroz određeno vrijeme pojavi se pojačana ekspresija jednog klona limfocita, koji s vremenom može dovesti do stanja u kojem nije moguća regulacija stanične proliferacije i smrti stanice što se povezuje s *H. pylori*-senzibiliziranim T limfocitima. Neadekvatni imunološki odgovor u nekih bolesnika samo je korak do klonalne proliferacije i razvoja limfoma želuca. Primarni B stanični limfomi gastrointestinalnog trakta su rijetke novotvorine, međutim najčešće se pojavljuju u želucu (oko 20% svih limfoma gastrointestinalnog trakta).

Kao kod svake upale, gastritis je kombinacija oštećenja epitelnih stanica (sve do nekroze) i procesa reparacije koji može biti svrsishodan ili se može "otrgnuti" normalnim kontrolnim mehanizmima. U posljednjem slučaju dolazi do pojave displazije- premaligne lezije te u krajnjem slučaju i do maligne alteracije.^{93,94,95,96}

1.4 Premaligne i maligne patohistološke promjene sluznice želuca

Iz još nedovoljno poznatih razloga kronični gastritis u nekih bolesnika postupno može prijeći u atrofični gastritis. Kronični atrofični gastritis smatra se pretkanceroznim stanjem. S njim se pojavljuju i druga pretkancerозна oštećenja: intestinalna metaplazija i displazija. Progresijom upalnih promjena koje rezultiraju atrofijom i intestinalnom metaplazijom dolazi do smanjenja gustoće bakterija na površini sluznice i posljedičnim smanjenjem neutrofilne infiltracije. Rizik od želučanog karcinoma povezan je s težinom i anatomske opsegom proširenosti premalignih patohistoloških promjena.

1.4.1 Atrofični gastritis

Atrofični gastritis predstavlja stanje gubitka žljezdanog tkiva sluznice želuca. Navedeno je povezano s gubitkom specijaliziranih stanica i želučane sekretorne funkcije.

Atrofija se može pojaviti u bilo kojoj dobi odrasle populacije. Porastom dobi populacije povećava se prevalencija atrofičnih promjena sluznice želuca. Zastupljenost pretkanceroznih promjena različita je u pojedinim zemljopisnim područjima. Dokazana je veća učestalost pojave težih oblika kroničnog gastritisa te atrofije i intestinalne metaplazije želučane sluznice u populacijama s većom incidencijom karcinoma želuca. U zemljama Zapada u 50-60% inficiranih kod kojih nije provedena eradikacijska terapija tijekom života dolazi do pojave atrofičnog gastritisa (1-3 % po godini prisutne infekcije) dok se ta promjena javlja u oko 5-10% neinficiranih.⁹⁷ Relativni rizik za razvoj karcinoma želuca u *H. pylori* pozitivnih

bolesnika iznosi 6-13 puta. U bolesnika s prisutnim atrofičnim gastritisom taj rizik se povećava na 15-90 puta.¹³⁶ Stoga se u 4-10% bolesnika s atrofičnim gastritisom nakon 5-10 godina od prve dijagnoze razvije želučani karcinom.⁹⁸

Dugotrajno liječenje inhibitorima protonske pumpe (IPP) bez infekcije bakterijom *H. pylori* ne dovodi do statistički značajnog porasta učestalosti atrofije sluznice želuca. Međutim, uz prisutnu *H. pylori* infekciju u dugotrajno liječenih s IPP kod 6% ispitanika godišnje dolazi do pojave atrofije.⁹⁹ Navedeno se povezuje s ponašanjem bakterije u slabije kiselom mediju koji joj pogoduje i dolazi do progresije gastritisa na područje korpusa želuca.¹⁰⁰ Eradikacija *H. pylori* dovodi do regresije kroničnih upalnih promjena povezanih s rizikom atrofičnih promjena.¹⁰¹ Ipak, prema rezultatima kontroliranih studija i preporukama FDA (*engl.* Federal Drug Agency) za sad se u rutinskom radu ne preporuča strategija testiranja i liječenja bolesnika s *H. pylori* na dugotrajnoj terapiji IPP.^{102,103} Međutim, dugotrajna istraživanja koja bi pružila nedvojbene podatke o ulozi IPP u navedenim procesima nisu učinjena.

U okolišnim faktorima induciranom atrofičnom gastritisu atrofične promjene su multifokalne i u početku najizraženije u antrumu želuca. U bolesnika s blagom i ranom fazom bolesti mogu biti prisutne na maloj krivini tzv. tranzicijskoj zoni prijelaza antruma i korpusa. U teškoj ili poodmakloj bolesti promjene mogu gotovo u cijelosti zahvatiti normalnu antralnu i korpusnu sluznicu.

Procesi koji dovode do atrofije sluznice i intestinalne metaplazije su kompleksni. Točan mehanizam nestanka žljezdanog tkiva i dugotrajne posljedice nisu u cijelosti poznati. Prisutnost atrofije sluznice želuca povezana je s težim

stupnjevima inflamacije i aktivnosti upalnog infiltrata.^{104,105} U gastritisu povezanom s *H. pylori* infekcijom, patohistološki se često vide infiltrati neutrofilnih stanica u istmusu i vratu žlijezda. Otpuštanje reaktivnih metabolita kisika i proteaza dovodi do oštećenja i smrti epitelnih stanica. Virulentniji sojevi koji posjeduju CagA i VacA dovode do jačih upalnih promjena i time do značajnijeg oštećenja stanica.^{106,107} Oštećenje stanica uzrokuje njihovo nestajanje i zamjenu drugim epitelnim stanicama (metaplazija) ili drugim tkivima (fibroza), a time i veće učestalosti pojave atrofije.^{108,109,110,111} Ipak, opaža se da je progresija atrofičnog gastritisa značajno uvjetovana faktorima vezanim uz domaćina. U dijelu inficiranih dokazana je prisutnost autoantitijela na dijelove fovelarnih i parijetalnih stanica. Autoantitijela objašnjavaju se mimikrijom epitopa lipopolisaharida stjenke bakterije (prisutnih u oko 80% sojeva bakterije *H. pylori*) i Lewis x i y antigena želučanih epitelnih stanica te epitopa eksprimiranih od strane enzima H⁺,K⁺ - ATPaze domaćina.¹¹² Međutim, autoimuni mehanizmi ne objašnjavaju nastanak atrofičnog gastritisa kod svih bolesnika, kao niti atrofične promjene u antrumu želuca (gdje je nisu zastupljene parijetalne stanice). Osim toga antiparijetalna antitijela su prisutna u 40% bolesnika s autoimunim atrofičnim gastritisom te 36% bolesnika bez atrofičnih patohistoloških promjena. Stoga se istražuju se i drugi potencijalni patogenetski mehanizmi. Pri tome su se značajnima pokazali: pojačana aktivnost T citotoksičnih stanica, rana aktivacija apoptoze i kronična hipergastrinemija. Dodatno se istražuje uloga promjena gena domaćina: HLA- DQ statusa, prisutnost mutacija CDX 1 i 2 gena te faktora okoline: uzimanje PPI i/ili nesteroidnih antireumatika, dijeta bogata solju, smanjen unos antioksidansa, amonijak, povrat žuči, pušenje, itd...¹¹³

Dosadašnja istraživanja nisu odgovorila na pitanje reverzibilnosti atrofičnih promjena sluznice želuca. Potencijalni mehanizmi reparacije prisutni su i u odrasloj dobi. Međutim, u određenom dijelu bolesnika moguće je njihovo zakazivanje čime se objašnjava ireverzibilnost navedenih promjena. Promjene u miofibroblastima i ekstracelularnom matriksu koje priječe fuziju stanica i gubitak poliklonalnih žljezdanih stanica u oksintičnoj mukozni onemogućavaju obnovu stanica, a novonastale metaplastične promjene dodatno zauzimaju mjesto potencijalno obnovljenom epitelu.

Dijagnoza atrofičnog gastritisa bazira se na patohistološkoj analizi. Povezanost rezultata određivanja razine pepsinogena i patohistološkog nalaza atrofičnog gastritisa potvrđena je u ranijim studijama.^{83,114,115} Zadnjih 20-ak godina određivanje razine PG pokazalo se korisnim u populacijskim studijama probira bolesnika za prisutnost premalignih patohistoloških promjena i ranog karcinoma želuca. Test se rutinski koristi u programima probira u zemljama s visokom prevalencijom karcinoma želuca. Zbog svoje neinvazivnosti koristi se i u epidemiološkim studijama. Potencijalni nedostatak takvog pristupa leži u činjenici da i sama prisutnost *H. pylori* gastritisa može dovesti do povišenja razine pepsinogena.^{116,117,118} Stoga postoji mogućnost da je prevalencija atrofičnog gastritisa podcijenjena.¹¹⁹

1.4.2 Intestinalna metaplazija

Metaplazija je stanje zamjene jedne vrste epitela drugom vrstom. Kod želučane sluznice uočene su tri vrste metaplazije: intestinalna, pseudopilorična i pankreatična. Pseudopilorična metaplazija je stanje zamjene obložnih i glavnih stanica oksintične sluznice mukoznim stanicama nalik onima antralne sluznice.

Pankreatična metaplazija predstavlja stanje zamjene stanica oksintične mukoze stanicama nalik na acinarne stanice pankreasa. Intestinalna metaplazija predstavlja stanje zamjene epitela želučane sluznice epitelom morfološki nalik na stanice sluznice crijeva. Samo intestinalna metaplazija smatra se pretkanceroznom promjenom.

Pretpostavlja se da je mehanizam nastanka intestinalne metaplazije povezan s izmijenjenom diferencijacijom želučanih matičnih stanica prema stanicama morfološki nalik stanicama tankog ili debelog crijeva. Stoga je intestinalna metaplazija obilježena prisutnošću stanica intestinalnog tipa: vrčaste stanice koja sadrže mucin, Panetove stanice i apsorptivne stanice.

Najčešće korištena podjela intestinalne metaplazije je ona autora *Filipe* i *Jassa*. Prema navedenoj podjeli intestinalna metaplazija se dijeli u: tip I – kompletni (nalik na stanice tankog crijeva), tip II – inkompletni (nalik na enterokolonične stanice - uglavnom sijalomucina pozitivna) i tip III – inkompletni (nalik na stanice debelog crijeva - uglavnom sulfomucin pozitivna).¹²⁰ Zbog ograničenog kliničkog značaja navedena podjela se ne koristi u rutinskoj praksi.

U zemljama Zapada u 40-50% *H. pylori* inficiranih tokom života se razvija intestinalna metaplazija. U neinficiranih taj postotak je značajno niži (5-10%). Prisutnost intestinalne metaplazije povezuje se s povećanim rizikom nastanka želučanog karcinoma. Osim tipa intestinalne metaplazije čini se da značajnu ulogu ima i distribucija promjena na sluznici želuca. Kao i kod atrofije ekstenzivnije promjene češće su povezane s razvojem karcinoma.¹²¹

Postoji mnoštvo dokaza o povezanosti infekcije s *H. pylori* s intestinalnom metaplazijom.^{122,123,124,125} Pojačano djelovanje bakterijskih toksina i upalni odgovor domaćina pridonose neodgovarajućoj diferencijaciji stanica nakon oštećenja povezanog s djelovanjem *H. pylori*. Značajni faktori u patogenezi bolesti su i čimbenici virulencije bakterije *H. pylori* (CagA), mutacije CDX 1 i 2 gena, povišen intraluminalni pH želuca te prisutan povrat žuči kod domaćina.

1.4.3 Karcinom želuca

Želučani karcinom je četvrti najčešći malignom i drugi vodeći uzročnik mortaliteta od malignih bolesti u svijetu. Incidencija želučanog karcinoma u svijetu prosječno iznosi 16.2 bolesnika/100 000 stanovnika godišnje. Najviša incidencija dokazana je u Istočnoj Aziji, Istočnoj Europi i Južnoj Americi. U izvješću Epidemiološkog zavoda Republike Hrvatske u 2003. godini incidencija želučanog karcinoma iznosila je 26.5/100.000 stanovnika. Prema nalazu novoregistriranih karcinoma u svijetu *H. pylori* se smatra odgovornim za nastanak 75% karcinoma i non-Hodgkin limfoma želuca.¹²⁶

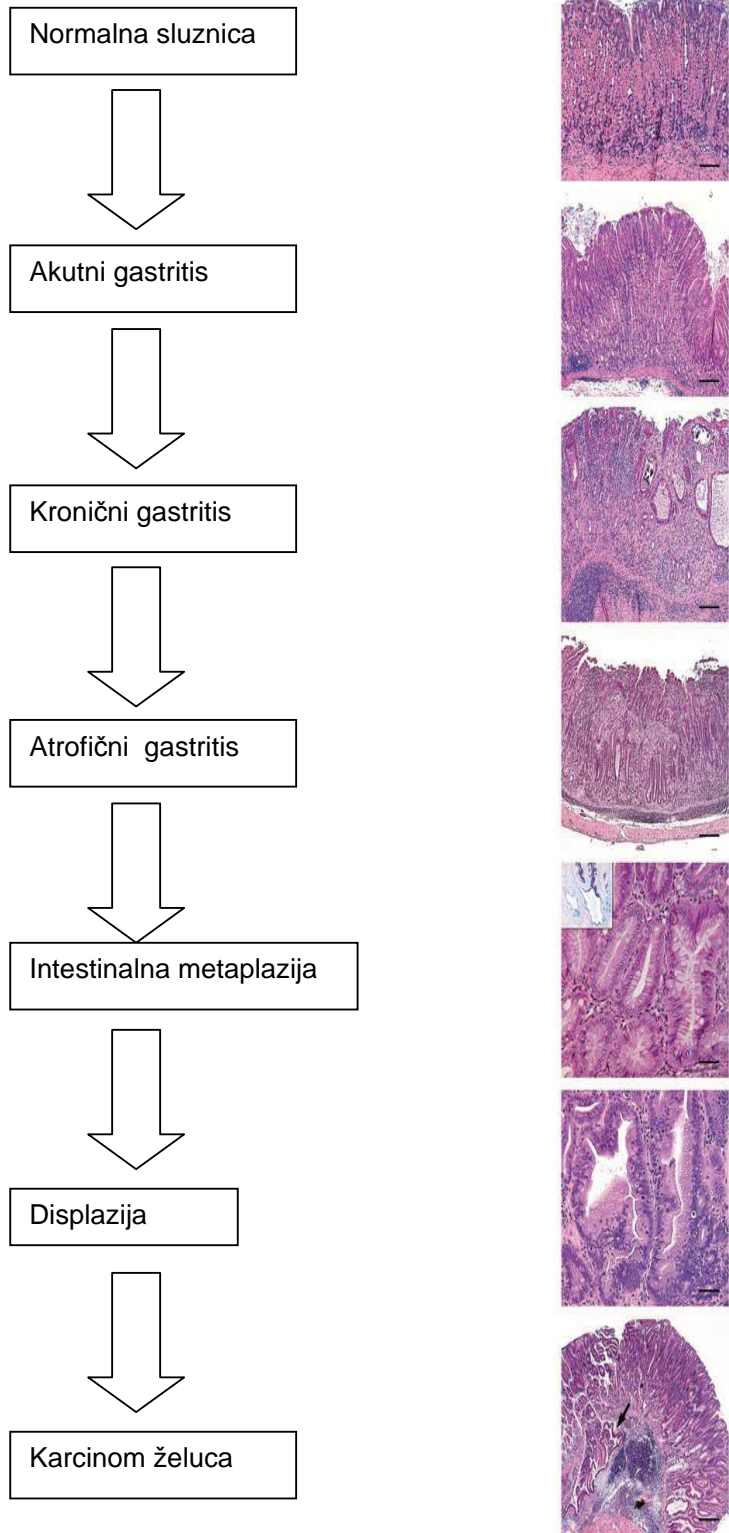
Bolest je u ranoj fazi često bez ili s nespecifičnim simptomima. Želučani karcinom često se otkriva u poodmakloj fazi bolesti kada su mogućnosti za izlječenje male. Prosječno petogodišnje preživljenje manje je od 20%. Stoga je želučani karcinom još uvijek značajni klinički i javnozdravstveni problem.

Najveći udio (90%) malignoma želuca čine adenokarcinomi koji se dijele u dva tipa: intestinalni i difuzni (nediferencirani).¹²⁷ Adenokarcinom intestinalnog tipa je

češći (2/3 slučajeva). Karcinomi želuca razlikuju se i prema lokalizaciji te se dijele u distalni (antrum i korpus želuca) i proksimalni tip (gastroezofagealna spojnica i proksimalni želudac). Infekcija je povezana s oba patohistološka tipa (intestinalni i difuzni) karcinoma.¹²⁸

Povezanost *H. pylori* i karcinoma želuca dokazana je epidemiološkim studijama, prospektivnim praćenjem bolesnika s *H. pylori* infekcijom i pokusima na životinjama^{125,129} Bakterija je dokazana u patohistološkim uzorcima bolesnika s prekanceroznim promjenama i karcinomom želuca.¹³⁰ Jedna od najvećih prospektivnih studija dokazala je da se u 2.9 % *H. pylori* inficiranih razvija karcinoma želuca, uz niti jedan slučaj u neinficiranih. U navedenoj studiji dokazana je povezanost prisutnosti pojedinih stupnjeva premalignih patohistoloških promjena s povećanim rizikom razvoja intestinalnog želučanog karcinoma (relativni rizik 1 - 34.5).

Za razliku od difuznog tipa razvoju intestinalnog tipa karcinoma predstoji sekvencijalna pojava premalignih promjena (Slika 4).¹³¹ U predloženom modelu karcinogeneze, *H. pylori* uzrokuje kroničnu upalu sluznice želuca - kronični gastritis koji ako se ne liječi u jednom dijelu bolesnika polagano progredira kroz pojavu premalignih promjena - atrofičnog gastritisa, intestinalne metaplazije i displazije do adenokarcinoma želuca.^{132,133,134} *H. pylori* se pronalazi u 44-97% bolesnika s atrofičnim gastritisom, 59-93% s intestinalnom metaplazijom te 87-100% bolesnika s displazijom i karcinomom želuca. Infekcija povećava rizik za nastanak karcinoma 6 – 13 puta.^{135,136}



Slika 4. Sekvencijalna pojava premalignih promjena u intestinalnom tipu karcinoma želuca.

H. pylori gastritis nedvojbeno je rizični faktor za nastanak atrofičnog gastritisa, intestinalne metaplazije, displazije i želučanog karcinoma. Osim infekcije značajnu ulogu u patogenezi karcinoma želuca imaju faktori domaćina. Čimbenici virulencije bakterije povezuju se pojačavanjem upalnog odgovora i neposrednim djelovanjem na gene uključene u karcinogenezu. Od strane domaćina različiti polimorfizmi gena za proinflamatorne citokine povezani su povećanim rizikom razvoja premalighnih promjena i karcinoma želuca.^{137,138,139,140,141} Kombinacijom navedenih polimorfizama proinflamatornih gena i virulentnih čimbenika bakterije rizik nastanka karcinoma višestruko se povećava.¹⁴²

Usprkos jasnoj povezanosti *H. pylori* infekcije i karcinoma želuca u većine bolesnika se ne razvije maligna bolest.^{143,144,145} Otvoreno je pitanje da li je sama *H. pylori* infekcija dovoljna za razvoj atrofičnog gastritisa.^{133,146} Prema nekim istraživanjima smatra se da je *H. pylori* samo jedan od čimbenika nastanka intestinalne metaplazije.¹⁴⁷ Navedenu činjenicu podupire činjenica da se premaligne promjene ne pojavljuju u svih inficiranih. Prevalencija infekcije ne podudara se s incidencijom karcinoma u nekim populacijama. Iako je infekcija podjednako prisutna u oba spola, karcinom želuca je 3 puta češći u muškaraca.^{148,149} *H. pylori* infekcija poticanjem kroničnog upalnog odgovora i oštećenja epitela sluznice povećava osjetljivost stanica za mutagene faktore okoline. Navedeno je u korelaciji s rezultatima istraživanja u kojem je pušenje povezano s većom učestalošću intestinalne metaplazije kod inficiranih.¹⁵⁰ Obiteljska anamneza povezana je s 1,5-3 puta povećanim rizikom razvoja karcinoma želuca.^{151,152} Da li je navedeno odraz grupiranja pojedinih sojeva *H. pylori* ili nasljednog polimorfizma proinflamatornih gena u članova obitelji nije još razjašnjeno.¹⁵³ Može se zaključiti da je ishod infekcije

povezan s kompleksnim međuodnosom čimbenika domaćina, okoline i bakterije koji u kombinaciji objašnjavaju ishod infekcije.

Uloga probira (*engl.* screeninga) asimptomatskih bolesnika na postojanje premalignih promjena i želučanog karcinoma je kontroverzna.¹⁵⁴ Masovni programi probira implementirani su u nekim zemljama s visokom incidencijom želučanog karcinoma od 90-ih godina (npr. Japan, Venezuela, Čile).¹⁵⁵ Pristupi i rezultati probira značajno se razlikuju. U većini zemalja probir se bazira na sekundarnoj prevenciji (probiru bolesnika s ranom fazom već razvijene maligne bolesti). S druge strane u zemljama s niskom razinom prevalencije karcinoma želuca navedeni programi nisu se pokazali ekonomski opravdanima. Neovisno o početnom riziku populacije za nastanak karcinoma želuca, probir opće populacije na *H. pylori* za sada nije preporučen. Ipak, se čini razložnim probirati na infekciju bolesnike s rizičnim faktorima za karcinoma želuca, npr. stariji bolesnici s atrofičnim gastritisom i pernicioznom anemijom, bolesnici s djelomičnom gastrektomijom, bolesnici sa sporadičnim želučanim adenomom, imigranti iz područja s visokom incidencijom želučanog karcinoma, bolesnici s familijarnom adenomatoznom polipozom ili hereditarnim nepolipoznim karcinomom debelog crijeva (pogotovo ako se karcinoma želuca već pojavio u srodnika). Optimalne metode, intervali praćenja, rizik i dobrobit takve strategije u navedenim populacijama nisu istraženi.

Općenito, da bi se neki program probira bolesnika smatrao pogodnim potrebno je zadovoljiti 3 kriterija: 1) bolest mora biti učestala u populaciji; 2) dijagnostički test mora biti pouzdan, jednostavan, jeftin i neškodljiv; 3) efikasna terapija mora biti dostupna. U azijskim zemljama otkrivanje ranih karcinoma želuca

povezano je s padom smrtnosti od navedene bolesti. Usprkos svim pokušajima probira, u zemljama Zapada, nije bilo moguće potvrditi da primjenom dosadašnjih metoda detekcije ranog karcinoma želuca posljedično dolazi i do pada razine smrtnosti od karcinoma želuca. Razlog tome su metodološke i terapijske razlike u populacijama.^{156,157} Tako je u radu japanski autora dokazana je dobrobit primjene eradikacijske terapije u bolesnika s ranim karcinomom želuca koji su liječeni endoskopskom mukoznom resekcijom u prevenciji razvoja ponovnog karcinoma želuca ili nastavka rasta okultnog karcinoma želuca (neotkrivenog prilikom prvog endoskopskog pregleda). Intenzivno se razmišlja o programima probira bolesnika u ranijim fazama infekcije s prisutnim premalignim promjenama. Istovremeno s planiraju programi primarne prevencije (prevencije nastanka malignih promjena) primjenom eradikacijske terapije. Rezultati nekih objavljenih studija podupiru uspješnost takvog pristupa.^{158,159} Rezultati dosadašnjih istraživanja ukazuju na moguću pozitivnu ulogu probira na postojanje premalignih promjena i eradikacijske strategije. Međutim, uspjeh nije dokazan u svim studijama i očigledno se odnosi na dio (još nedovoljno definiranih) bolesnika. Također je otvoreno pitanje probira populacije na *H. pylori*, optimalne dobi testiranja i posljedične provedbe terapije. Da bi se zadovoljila 2 važna faktora uspješnog programa probira (optimalni dijagnostički test i efikasna terapija) potrebna su dalja istraživanja patogeneze, metoda probira i praćenja premalignih patohistoloških promjena te prevencije njihova nastanka i progresije uspješnom eradikacijom *H. pylori* infekcije.

1.5 Dijagnostika patohistoloških promjena povezanih s *H. pylori* infekcijom

1.5.1 Sydney-ska klasifikacija gastritisa

U svim ranijim istraživanjima patologije gastritisa postojala je težnja za što boljom i uniformnijom dokumentacijom histološkog nalaza. To je rezultiralo mnogobrojnim klasifikacijama gastritisa od kojih su mnoge i danas u upotrebi.

Povezanost *H. pylori* s ulkusnom bolesti želuca i dvanaesnika te karcinomom želuca dovela je do zadnje predložene klasifikacije gastritisa: Sydney - ske klasifikacije gastritisa.^{160,161} Sydney - ska klasifikacija gastritisa iz 1990. godine kombinira topografske, morfološke i etiološke podatke o stanju sluznice želuca. Upravo ta kombinacija parametara ima za cilj unaprijediti reproducibilnost dijagnoze gastritisa.

Klasifikacija se sastoji od dva dijela od kojih se jedan odnosi na endoskopski, a drugi na patohistološki nalaz. Sydney- ska klasifikacija revidirana je u Houstonu 1994 godine. Revizija je išla u pravcu boljeg definiranja tipova gastritisa tj. razlikovanja ne-atrofičnog i atrofičnog gastritisa. Osim toga uvedeno je detaljnije stupnjevanje morfoloških promjena kako bi se standardizirala dijagnoza.^{162,163}

Prema Sydney- skoj klasifikaciji gastritis se dijeli u tri skupine:

1. akutni
2. kronični
3. s posebnim obilježjima.

Morfološke odrednice su kombinacija endoskopskog i patohistološkog nalaza (Tabela 3).

a) Endoskopski nalazi definirani Sydney- skom klasifikacijom mogu biti:




1. **edem**- oteklina ili izbočenje sluznice mliječnog izgleda
2. **eritem**-crvenilo ili hiperemija sluznice u obliku krpičastih područja promjera 1-3 mm ili crvenih pruga, raspoređenih fokalno, segmentalno ili na većoj površini
3. **eksudat**- točkastog (*H. pylori* infekcija) ili krpičastog izgleda, otporan na energično ispiranje (mora se razlikovati od ostataka hrane)
4. **erozije**- prekid kontinuiteta sluznice tj. žarišta nekroze; mogu biti solitarne, multiple ili mnogobrojne, u razini okolne sluznice ili ravne erozije – antrum i izdignute, varioliformne – korpus; treba ih razlikovati od ulkusa i od polipoze želuca u slučaju varioliformnih oblika
5. **hiperplaziju nabora sluznice**- kad se insuflacijom zraka nabori sluznice ne mogu izravnati; blagi stupanj – debljina nabora < 5 mm, umjereni stupanj – nabori 5 –10 mm, nabori > 10 mm – izražena hiperplazija
6. **atrofiju sluznice**- najčešće u korpusu; razlikuju se 3 stupnja, pri čemu izraženu atrofiju označavaju potpuno izravnani nabori
7. **nodularnost sluznice**- može biti sitno ili grubo zrnatog izgleda.

b) Patohistološka klasifikacija gastritisa je od ključne važnosti. Dijagnoza gastritisa zapravo je patohistološka.

Patohistološka analiza se sastoji od tri dijela (Tabela 3):

1. etiološkog
2. topografskog
3. morfološkog.

Tabela 3. Patohistološki dio Sydney sistema.

Etiologija	Patohistološki dio	Morfolologija	
<i>H. pylori</i> ostalo	1. Akutni gastritis 2. Kronični gastritis 3. Specijalne forme Anatomska lokalizacija:	Stupnjevani parametri: 0. nema 1. rijetko 2. osrednje 3. obilno	1. aktivnost 2. inflamacija 3. atrofija (ATR) 4. intestinalna metaplazija (IM) 5. <i>H. pylori</i>
	 pangastritis  korpusni gastritis  antralni gastritis	Nestupnjevani parametri:	1. nespecifični 2. specifični

Etiologija neutrofičnog gastritisa najčešće je povezana s *H. pylori* infekcijom.

Rijetko taj tip gastritisa može biti uzrokovan i nekim drugim faktorima.

Prema **topografiji** gastritis može biti:

1. antralni
2. korpusni
3. pangastritis (zahvaća oba područja).

Stoga topografski razlikujemo **ne-atrofični gastritis** koji može biti **difuzni antralni (DAG)** ili **kronični antralni gastritis (CAG)** te **atrofične gastritise** u koje spadaju **autoimuni atrofični** i **multifokalni atrofični gastritis (MAG)**. Etiologija neatrofičnog gastritisa najčešće je povezana s *H. pylori* infekcijom. Rijetko taj tip gastritisa može biti uzrokovan i nekim drugim faktorima. Kod oba je upalna reakcija dominantna u antralnom dijelu želuca. Atrofični autoimuni gastritis povezan je gotovo u pravilu s pernicioznom anemijom. Lokaliziran je u korpusu želuca. Multifokalni atrofični gastritis etiološki je povezan s *H. pylori* infekcijom, ali i s neuravnoteženom ishranom, NSAIL i povratom žuči. Atrofija i intestinalna metaplazija mogu biti difuzne ili multifokalne. Multifokalni atrofični gastritis povezan je s želučanim ulkusom te rizikom želučanog karcinoma.

Iz navedenog slijedi da je u **morfološku** analizu sluznice želuca potrebno uključiti za svaku topografsku lokalizaciju sluznice (antrum i/ili korpus):

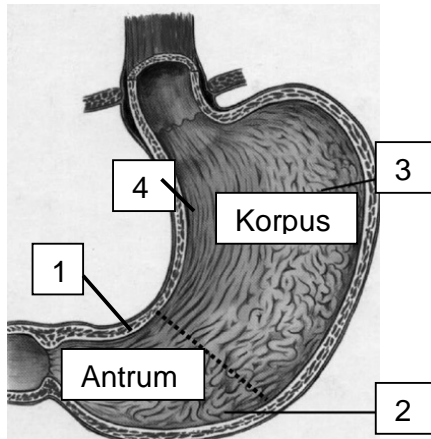
1. **etiološki uzrok gastritisa:** *H. pylori* prisutan ili odsutan
2. **tip upalnog infiltrata** mono ili polimorfonukleari- znaci aktivnosti upale i **količinu infiltrata**. Pored tipa važna je i količina prisutnog upalnog infiltrata jer ta kombinacija ukazuje na opseg oštećenja koji se može očekivati

3. **atrofija sluznice:** gubitak žljezdanog tkiva. Sve nabrojane morfološke promjene mogu zahvatiti superficialni dio ili difuzno cijelu debljinu sluznice želuca. Difuzni upalni infiltrat može u kroničnom gastritisu tijekom vremena oštetiti sluznicu s postepenim gubitkom epitelnih struktura, poremetiti funkciju i na kraju stanjiti sluznicu tj. dovesti do različitih stupnjeva atrofije sluznice.¹⁶⁴
4. **metaplazija sluznica:** u sluznici želuca mogu se pojaviti različiti tipovi metaplazije (žljezdana, pseudopilorična, pankreatična, intestinalna), ali samo intestinalna metaplazija (IM) može biti premaligna lezija. Na temelju morfologije subtipova i funkcionalnih karakteristika mucina vrčastih stanica IM se klasificira u tip I- kompletna metaplazija, tip II- inkompletna ili sijalomucin pozitivna metaplazija i tip III- inkompletna ili sulfomucin pozitivna metaplazija. IM pojavljuje se neovisno o atrofiji sluznice.
5. **displazije** najčešće klasificiramo u tri stupnja, pri čemu stupanj III prema sadašnjim shvaćanjima spada u značajnu pretkanceroznu leziju i zahtijeva kliničko praćenje.^{120,165,166}

Za morfološku analizu uzimaju se barem četiri uzorka sluznice želuca prema originalnom Sydney-skome protokolu (Slika 5). Bioptički materijal se uklopi u parafin i klasično oboji:

1. hemalaun-eozinom za standardnu histološku analizu
2. PAS (*engl.* periodic acid Schiff)-alcijan plavilom za dokaz intestinalne metaplazije

3. modificiranim 2% Giemsa ili Warthin- Starry bojenjem za određivanje stupnja mukozne kolonizacije s *H. pylori*.



Slika 5. Anatomske lokacije želuca za uzimanje uzoraka po Sydney sistemu (1- antrum prednja stjenka; 2- antrum stražnja stjenka; 3- korpus prednja stjenka; 4- korpus stražnja stjenka).

U svakom uzorku bioptata želučane sluznice 4 navedena morfološka kriterija (inflamacija, aktivnost, atrofija, intestinalna metaplazija) semikvantitativno se klasificiraju u četiri stupnja: nema, rijetko, osrednje, obilno.

Primjena ovog sistema omogućava neprekidno praćenje endoskopskih promjena i patohistološkog nalaza što daje uvid u stanje sluznice želuca i kumulativni rizik za nastanak ulkusa, pretkanceroza i karcinoma želuca. Kako sidnejski sistem klasifikacije gastritisa obuhvaća sve glavne podjele gastritisa, taj sistem nije u proturječju s niti jednom drugom podjelom.

Senzitivnost patohistološke dijagnostike infekcije s *H. pylori* je 93-99%, a specifičnost 95-99%.

1.5.2 OLGA sistem

U dosadašnjim istraživanjima pokazalo se da osim prisutnog stupnja patohistoloških promjena na progresiju atrofičnog gastritisa utječe i njegova anatomska proširenost na sluznici želuca. Sydney-ski sistem ne daje u tom pogledu dovoljno prognostičkih i terapijskih informacija kliničarima.

Zadnjih godina predložen je novi sistem bodovanja – OLGA sistem (*engl. Operative Link on Gastritis Assessment*). Pristup uzimanja bioptičkih uzoraka i stupnjevanja patohistoloških parametara gastritis bazira se na Sydney sistemu. Ipak, zadnjim sistemom uzima se u obzir i topografska proširenost atrofičnog gastritisa na anatomskim lokacijama želuca (antrum i/ili korpus) i prisutan stupanj težine promjene (0-1-2-3 prema Sydney sistemu). Na taj način patohistološki nalaz dijeli se u 4 stadija ovisno o zastupljenosti pojedinih stupnjeva atrofičnog gastritisa na jednoj ili obje anatomske lokalizacije u želucu (antrum i/ili korpus) (Tabela 4).¹⁶⁷

Tabela 4. Stadiji patohistološkog nalaza atrofičnog gastritisa prema OLGA sistemu.

stupanj atrofije antruma (prema Sydney sistemu)	stupanj atrofije korpusa			
	0	1	2	3
0	0	1	2	2
1	1	1	2	3
2	2	2	3	4
3	3	3	4	4

U ranijim istraživanjima pokazalo se da taj novi sistem može lagano koristiti. On daje mnogo više prognostičkih i terapijskih podataka kliničarima. Porastom stadija atrofičnog gastritisa rizik pojave karcinoma želuca raste eksponencijalno. U 439 prospektivno analiziranih ispitanika koji se javljaju u endoskopski laboratorij radi dispeptičnih tegoba benigne promjene kao ulkus dvanaesnika kontinuirano su se grupirale u stadij 0-1, a incidentalni malignomi u stadije 3-4.¹⁶⁸

1.5.3 Dijagnostičke metode u otkrivanju premalignih promjena želuca

Premaligne promjene čest su nalaz u rutinskim biopsijskim uzorcima dobivenim tijekom endoskopskog pregleda. Uzimajući u obzir da se infekcija bakterijom *H. pylori* nalazi u prosječno 40% populacije zapadnih zemalja te 60% populacije Japana, a atrofični gastritis tokom života razvija u 60% bolesnika Zapada te 80% inficiranih u Japanu može se zaključiti da se navedene promjene mogu tokom života očekivati u biopsijskim uzorcima 1/3 odraslih na Zapadu te 1/2 u Japanu. Istovjetno, može se procijeniti da se prisutnost intestinalne metaplazije može utvrditi u 1/4 odraslih u zemljama Zapada te 1/3 u Japana.

Primijećeni postotak progresije premalignih promjena prema karcinomu želuca različit je od studije do studije ovisno o: modelu ispitivanja, vremenu praćenja, ispitivanoj populaciji, broju bioptičkih uzoraka, varijacijama u definicijama intestinalne metaplazije i displazije. U jednoj analizi taj postotak za atrofični gastritis iznosi 0-1.8% godišnje, intestinalnu metaplaziju 0-10% godišnje te displaziju 0-73% godišnje.¹⁶⁹

Značajnu razliku među populacijama čine i metodološke razlike u detekciji navedenih promjena. U zemljama Zapada otkrivanje prisutnosti atrofičnog gastritisa, intestinalne metaplazije, displazije i ranog karcinoma želuca temelji se na histološkoj analizi sluznice želuca. Iako su u prošlosti predložene mnoge patohistološke klasifikacije gastritisa danas se najčešće u praksi i istraživanjima koristi Sydney - ska klasifikacija gastritisa. U azijskim zemljama prisutnost i raširenost navedenih promjena češće utvrđuje već samom vizualizacijom tijekom endoskopije. Razlog tome je razlika u edukaciji i endoskopskim metodama među različitim populacijama. Iako se kvaliteta slike dobivene endoskopskim putem značajno unaprijedila u zadnjem desetljeću nalaz konvencionalne endoskopije nedovoljno se podudara s patohistološkim nalazom atrofičnog gastritisa, intestinalne metaplazije i displazije. Slaba vizualizacija struktura, boja i vaskularizacije konvencionalnim metodama razlogom su nemogućnosti endoskopskog razlikovanja premalignih promjena i ranog karcinoma želuca. Primjenom novijih metoda (*engl.* magnification endoscopy) pokušava se poboljšati mogućnost prepoznavanja navedenih promjena uz bolju korelaciju rezultata s patohistološkim nalazom. U rutinskoj praksi, endoskopski nalaz još uvijek značajno ovisi o pojedinačnom mišljenju eksperta – endoskopičara, a jedinstvene endoskopske klasifikacije nedostaju. Nedostatak novih metoda je i njihova nedostupnost u svim laboratorijima te potreba značajnije dužeg vremena

trajanja pretrage. Navedeno je razlogom što se danas dijagnostika premalignih promjena (pogotovo u zemljama Zapada) još je uvijek bazirana na histološkoj analizi bioptičkih uzoraka dobivenih tijekom endoskopije. Ograničenje takvog pristupa je nejednolika distribucija patohistoloških promjena na sluznici želuca i posljedično mogućnost lažno negativnih rezultata. Sama endoskopska pretraga često je neugodna za bolesnika što je ograničenje metode u slučajevima potrebe opetovanih pregleda tokom praćenja.

Atrofični gastritis povezan s *H. pylori* i najranije se javlja u antralnom dijelu želuca (maloj krivini antruma i incizuri). Trajanjem infekcije postupno napreduje prema distalnom te proksimalnom korpusu. Navedene promjene utječu na broj stanica sposobnih lučiti želučane enzime. Stoga je i razina enzima PGI, PGII i G17 promijenjena proporcionalno patohistološkom i funkcionalnom statusu sluznice želuca. U mnogim istraživanjima serumske razine pepsinogena I (PGI), pepsinogena II (PGII) i gastrina-17 (G-17) pokazale su se korisnim u neinvazivnoj detekciji prisutnosti atrofičnog gastritisa.^{170,171,172} Gastritis dovodi do pojačanog lučenja PGI i PGII sa značajnijom produkcijom PGII.^{173,174} Razina PGI i PGII signifikantno pada unutar 2 mjeseca od eradikacijske terapije.^{175,176,177} Prema nekim ispitivanjima primjenom testova određivanja razine sva tri enzima (PGI, PGII i G17) moguće je razlučiti postojanje normalnog patohistološkog nalaza sluznice želuca od nalaza ne - atrofičnog te atrofičnog gastritisa sa senzitivnošću 64% i specifičnošću 93% (PPV 70%, NPV 91%, preciznost (*engl. accuracy*) 87%)¹⁷⁸

Atrofični gastritis je obilježen sniženom razinom produkcije oba PG sa značajnije nižom razinom lučenja PGI u odnosu na PGII. Zbog toga je i kronični

gastritis obilježen sniženom razinom omjera PGI/II, a taj omjer je još niži s razvojem atrofičnog gastritisa, intestinalne metaplazije i displazije.

Gastrin se isključivo sintetizira u G stanicama antruma. *H. pylori* gastritis obilježen je hiperplazijom G stanica i povišenom razinom gastrina. U uvjetima atrofičnog gastritisa korpusa radi snižene produkcije kiseline dolazi do povišenog lučenja gastrina. Obrnuto, u atrofičnom gastritisu antruma razina gastrina je snižena. Ulogu određivanja enzima PGI,PGII i G17 u predikciji atrofičnog gastritisa antruma još je potrebno istražiti.¹¹⁸

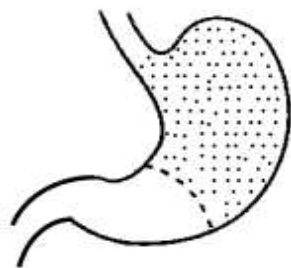
Kombinacijom određivanja razine navedenih enzima uz serološko testiranje na prisutnost *H. pylori* moguće je, primjenom neinvazivnih metoda, utvrditi prisutnost *H. pylori* pozitivnog gastritisa te lokalizaciju atrofičnih promjena s visokom senzitivnosti i specifičnosti (Slika 6). Komercijalno dostupni testovi za određivanje razine PGI, PGII, G17 te anti *H. pylori* antitijela pokazali su 80% pouzdanost u detekciji atrofičnog gastritisa (osjetljivost 83%, specifičnost 93%, PPV 75%, NPV 97%).¹⁷⁹ Značaj serološkog probira na prisutnost intestinalne metaplazije i displazije u rutinskoj kliničkoj praksi još se ispituje. Studije u Japanu ukazuju da su razina PGI <70 ng/mL i odnos PGI/II <3 povezani s teškim stupnjem atrofije sluznice, a navedene vrijednosti mogu se koristiti u probiru bolesnika sa želučanim karcinomom.¹⁸⁰ U radovima drugih autora razina PGI <60 ng/mL, PGII 18-23.6 ng/mL te odnos PGI/II < 3.5 pronalaze se u većine ispitanika s barem umjerenim stupnjem atrofičnog gastritisa.^{181, 182} Urita i au. objavili su rezultate istraživanja na 878 *H. pylori* pozitivnih bolesnika u kojih se snižena razina PGI i PGII te odnos PGI/II < 3 pokazala se izvrsnim markerom prisutnosti i topografije intestinalne metaplazije u bolesnika s atrofičnim gastritisom

(senzitivnost 71.7%, specifičnost 66.7%).¹⁸³ Testovi bazirani na mjerenju razine pepsinogena dokazali su se pouzdanijim u probiru bolesnika s povećanim rizikom za razvoj želučanog karcinoma nego u utvrđivanju njegove neposredne prisutnosti.^{184,185}



Neutrofični gastritis

↑ PGI
↑↑ PGII
↓ PGI/PGII
normalna ili ↑ G17



Atrofični gastritis korpusa

↓↓ PGI
↓ PGII
↓↓ PGI/PGII
↑↑ G17



Multifokalni atrofični gastritis

↓ PGI
↓ PGII
↓ PGI/PGII
↓ G17

Slika 6. Razina enzima PGI, PGII, PGI/II i G17 u atrofičnom i neutrofičnom gastritisu antruma i/ili korpusa želuca.

Objavljeno je mnoštvo studija o povezanosti *H. pylori* gastritisa i razine PG. Međutim, rijetke su studije koje su ispitivale odnos razine PGI patohistoloških promjena želučane sluznice nakon provedene eradikacijske terapije. Rezultati malobrojnih studija uglavnom se razlikuju ovisno o: vremenu praćenja, zastupljenosti

pojedinih premalignih promjena u početnom patohistološkom nalazu, te početnim vrijednostima PGI i PGII.^{182,197}

Mogućom rutinskom primjenom neinvazivnih seroloških metoda određivanjem razine PGI, PGII i G17 u otkrivanju prisutnosti i dinamici premalignih patohistoloških promjena mogli bi se izdvojiti bolesnici koji su pod povećanim rizikom za razvoj karcinoma želuca te koji zahtijevaju terapiju i praćenje. Rutinska primjena navedenih testova zahtijeva njihovo testiranje na pojedinoj populaciji.

1.6 Utjecaj eradikacijske terapije na prevenciju razvoja karcinoma želuca i dinamiku premalignih patohistoloških promjena

Iako je eradikaciju bakterije moguće postići u oko 80% inficiranih čini se da time nije riješen globalni problem prevencije pojave karcinoma želuca. Niska incidencija karcinom želuca u razvijenim zemljama čini generalni populacijski program probira i terapije *H. pylori* u prevenciji pojave karcinoma želuca nepraktičnim. Zato se ispituju metode probira populacije pod povećanim rizikom za nastanak karcinoma. S druge strane, u intervencijskim studijama potrebne su velike skupine ispitanika i dugotrajno vrijeme praćenja da bi se dokazala povezanost uspjeha eradikacijske terapije s smanjenjem incidencije karcinoma. Obzirom da se radi o dokazanom kancerogenu postavlja se i pitanje etičnosti placebo skupine takvih ispitivanja.

Kemoprevencija je definirana primjenom farmakoloških supstanci radi zaustavljanja karcinogeneze. Kemoprevencija primjenom eradikacijske terapije bakterije *H. pylori* često se primjenjuje i kod bolesnika s premalignim promjenama

sluznice želuca prisutnim u rutinskim biopsijama želuca. Ipak, još je uvijek otvoreno pitanje da li navedeno utječe na zaustavljanje procesa karcinogeneze te čak uzrokuje regresiju prisutnih promjena. Rezultati nekoliko objavljenih prospektivnih kliničkih studija su u suprotnosti.

H. pylori je nesumnjivo prvobitni pokretački faktor u nastanku premalignih promjena povezanih s razvojem karcinoma želuca. Ipak, uloga bakterije u daljoj progresiji navedenih promjena još je neutvrđena. Stoga se postavlja ključno pitanje: da li se uspješnom eradikacijom može zaustaviti proces karcinogeneze i potaknuti regresiju premalignih patohistoloških promjena sluznice želuca?

Nije uvijek lako moguće prepoznati atrofiju i intestinalnu metaplaziju endoskopskim putem. Patohistološke metode bazirane na bioptičkim uzorcima ograničene se nejednolikom distribucijom promjena te se postavlja pitanje optimalne dijagnostičke metode.¹⁸⁶ U kohortnoj studiji britanskih autora zaključuje se da višegodišnje praćenje bolesnika s premalignim promjenama dovodi do ranijeg otkrivanja karcinoma želuca.¹⁸⁷ Ipak, niti europsko ni američko gastroenterološko društvo nema izričit stav o praćenju bolesnika s premalignim društvima i preporuča se individualni pristup uz preporuku praćenja samo dijela bolesnika s obiteljskom anamnezom karcinoma želuca.¹⁸⁸

Eradikacija *H. pylori* dovodi do više patofizioloških promjena koje mogu utjecati na smanjenje rizika razvoja karcinoma želuca. Uspješna eradikacija bakterije povezana je s reduciranom proliferacijom stanica i porastom razine askorbinske kiseline, oporavkom inflamacije sluznice želuca, nestankom hiperplastičnih polipa,

normalizacijom apoptotičkog indeksa, promjenom staničnog fenotipa intestinalne metaplazije u podtipove sa smanjenim rizikom maligne alteracije.^{189,190,191,192} U prvotno učinjenim nerandomiziranim intervencijskim studijama dokazana je učinkovitost eradikacije na prevenciju želučanog karcinoma. Ipak, dokazi iz kvalitetno dizajniranih studija o učinku eradikacije na prevenciju karcinoma želuca su slabi. Prva prospektivna kontrolirana randomizirana studija o utjecaju eradikacije *H. pylori* na razvoj karcinoma želuca nije općenito dokazala pozitivan učinak eradikacije na prevenciju razvoja karcinoma želuca. Ispitivanje je provedeno na 1630 inficiranih u Kini, a ispitanici su praćeni 7.5 godina. Podgrupnom analizom dokazana je učinkovitost eradikacijske terapije u dijelu ispitanika bez prisutne intestinalne metaplazije u trenutku terapije.¹⁹³ You i au. 2006. godine objavili su rezultate do sada najveće studije o utjecaju eradikacijske terapije u bolesnika kineske regije s visokom incidencijom nastanka želučanog karcinoma. Nakon 7.3 godina praćenja u bolesnika s uspješnom eradikacijom došlo je do pada incidencije karcinoma želuca s 2.39 na 1.69%. Ipak, ta razlika usprkos velikom broju ispitanika nije se pokazala statistički značajnom, a u podgrupnoj analizi u bolesnika s intestinalnom metaplazijom taj utjecaj je najmanji. Dodatak vitamina (C, E) i selena ili češnjaka tokom ispitivanog intervala (7.3 godina) nije imao efekta na uspjeh eradikacijske terapije u redukciji incidencije karcinoma želuca. Povoljniji efekt eradikacijske terapije na prosječni patohistološki zbroj bodova u 7.3 godišnjem intervalu uočen je za podgrupe bolesnika s nižim patohistološkim zbrojem bodova na početku, mlađih od 45 godina starosti, žena i nepušača.¹⁹⁴

Razne studije dokazale su da uspješna eradikacija dovodi do potpune rezolucije gastritisa. Aktivna komponentna (polimorfonuklearna infiltracija) uglavnom

nestaje unutar par tjedana, a mononuklearna infiltracija (kronična komponenta) može kompletno nestati za više mjeseci, a ponekad i do 2 godine.

Rezultati nerandomiziranih studija o utjecaju uspješne eradikacije bakterije na regresiju premalignih promjena su oprečni.^{191,195,196,197,198} Podjednako je i s rezultatima randomiziranih placebo kontroliranih intervencijskih studija. Navedena ispitivanja razlikuju se u kriterijima za uključenje u studiju, vremenu praćenja, zastupljenosti pojedinih patohistoloških parametara u početnom patohistološkom nalazu, primijenjenim dijagnostičkim metodama, endoskopskom nalazu i ispitivanoj populaciji. U studiji *Correa P i au.* utvrđen je statistički značajan povoljni efekt eradikacijske terapije u 6-godišnjem intervalu na regresiju premalignih promjena u *H. pylori* eradikiranih bolesnika.¹⁹⁹ Praćenjem navedenih bolesnika u 12-godišnjem vremenskom intervalu potvrđen je povoljni efekt eradikacijske terapije na prosječni patohistološki broj bodova (*engl. score*), ali bez utjecaja dodataka beta karotena i vitamina C u terapiji. Značajnim se pokazao efekt kvadrata vremena proteklog od uspješne eradikacijske terapije na stupanj regresije premalignih parametara. Regresija stupnja atrofičnog gastritisa zamijećena je neovisno o početnom (prije primjene terapije) stupnju promjena i značajnije je zamijećen u antrumu želuca. U navedenom vremenu praćenja nije dokazan utjecaj terapije na regresiju displastičnih promjena.²⁰⁰ Studija nizozemskih autora u 2-godišnjem intervalu praćenja dokazala je regresiju stupnja patohistološke promjene atrofičnog gastritisa, ali ne i intestinalne metaplazije.²⁰¹ Ispitivanje *Ley C. i au.* na meksičkoj populaciji zdravih dobrovoljaca u jednogodišnjem vremenu praćenja dokazalo je regresiju globalnog histološkog zbroja bodova u antrumu želuca u eradikiranih bolesnika. Međutim navedeno nije dokazano i analizom udjela ispitanika s određenom dinamikom (progresija/regresija/bez

promjene) patohistoloških parametara u odnosu na placebo.²⁰² *Sung JJ* i au. nisu dokazali regresiju premalignih promjena (atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije) u jednogodišnjem intervalu već tek u 5-godišnjem intervalu praćenja.²⁰³ U prvoj učinjenoj randomiziranoj studiji u 5-godišnjem intervalu dokazana je redukcija broja bolesnika s progresijom atrofičnog gastritisa u antrumu i korpusu te intestinalne metaplazije u antrumu želuca. Nije dokazana redukcija incidencije karcinoma želuca u odnosu na placebo grupu, ali je dokazana u podgrupi bolesnika bez prisutnih premalignih patohistoloških promjena na početku studije. S druge strane većina bolesnika (86%) kod kojih se razvio karcinom želuca imali su prisutan nalaz intestinalne metaplazije ili displazije na početku praćenja. Rizičnim faktorima za razvoj karcinoma želuca pokazali su se i pušenje te starija životna dob.¹⁹³ *Take S. i au.* pratili su prosječno 3.4 godina bolesnike s peptičnom bolesti i provedenom eradikacijskom terapijom. Dokazali su značajni pad incidencije karcinoma želuca u bolesnika koji su uspješno eradikirani u odnosu na one koji nisu. Svi bolesnici kod kojih se razvio karcinom želuca u trenutku prvog pregleda imali su prisutan atrofični gastritis, a 66% i intestinalnu metaplaziju. Kod svih ne-eradikiranih bolesnika razvio se difuzni tip karcinoma želuca, a kod eradikiranih podjednako oba tipa. Svi karcinomi želuca razvili su se kod bolesnika s prethodno prisutnim želučanim ulkusom.²⁰⁴

Oprečni rezultati provedenih studija dijelom se povezuju i s činjenicom da je najduže vrijeme praćenja bolesnika manje od 10 godina. Trajanje vremenskog slijeda u nastanku karcinoma je puno duže, pogotovo u dijela bolesnika bez razvijenih premalignih promjenama na početku ispitivanja. Stoga je moguće da je u navedenim studijama (s incidencijom karcinoma kao krajnjim ciljem) podcijenjen opseg

povezanosti eradikacijske terapije i prevencije karcinoma želuca. Iz tog razloga, većina narednih intervencijskih studija krajnji cilj intervencije počela je bazirati na proučavanju utjecaja terapije na dinamiku premalignih promjena.

U eksperimentalnim modelima na miševima s uspješnom eradikacijom dokazana je mogućnost prevencije razvoja karcinoma želuca u svih stadijima premalignih lezija. U miševa s razvijenim malignim tumorom dokazana je regresija tumorske bolesti, ali samo ako se eradikacija provede u vremenu prvih 6 mjeseci od infekcije.²⁰⁵ U modelu kancerogeneze na mongolskom gerbilu također je dokazano da uspjeh eradikacijske terapije u prevenciji nastanka premalignih promjena ovisi o vremenu kada je provedena terapija od početka infekcije.²⁰⁶

Hojo i au. objavili su rezultate meta analize studija kojima je istražena dinamika patohistoloških promjena sluznice želuca nakon eradikacijske terapije. Zaključuju da stupanj aktivnosti i inflamacije regredira, stupanj atrofije u dijelu ispitanika, a za intestinalnu metaplaziju je teško pružiti zaključak zbog problema u razlici u metodologiji i statističkim metodama analiziranih studija.²⁰⁷

Iz spomenutih razloga mogućnost prevencije želučanog karcinoma u inficiranih bolesnika s premalignim promjenama još je uvijek kontroverzna tema pogotovo u dijelu bolesnika s intestinalnom metaplazijom i displazijom.^{199,201,208} Može se zaključiti da eradikacija *H. pylori* ne dovodi do regresije ili zaustavljanja progresije premalignih promjena u svih bolesnika. Pri tome je utjecaj drugih (do sada neistraženih) faktora značajan u navedenim procesima. Vanjski faktori koji bi mogli biti značajni su: bilijarni refluks, dijetalne navike, autoimunost, obilježja bakterije i

domaćina. Osim toga evidentno je da neke premaligne promjene u još neodređenom trenutku prelaze razinu iz koje povrat više nije moguć. Preporuča se dalje provođenje istraživanja s navedenim pitanjima u dobro dizajniranim intervencijskim studijama, na većem broju ispitanika i odvojenim populacijama s različitom incidencijom karcinoma.

Rijetke su studije koje su ispitivale ulogu čimbenika virulencije bakterije na dinamiku premalignih promjena. U jednoj od studija iako je *cagA* pozitivitet bio povezan s značajno višim stupnjevima epitelnog oštećenja, aktivnosti upale, atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije *cagA* status nije utjecao na stupanj regresije premalignih promjena nakon provedene terapije.¹²⁴

2. HIPOTEZA

Uspjeh eradikacijske terapije i prisutnost čimbenika virulencije bakterije povezani su s promjenom stupnja premalignih promjena atrofije i intestinalne metaplazije sluznice želuca u petogodišnjem vremenskom intervalu.

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja je:

1. utvrditi utjecaj uspješnosti eradikacijske terapije *H. pylori* na regresiju premalignih promjena: atrofije i intestinalne metaplazije u 5 godišnjem vremenskom intervalu

2. utvrditi utjecaj prisutnosti čimbenika virulencije bakterije *H. pylori* na regresiju premalignih promjena: atrofije i intestinalne metaplazije u 5- godišnjem vremenskom intervalu
3. usporediti rezultate serološkog određivanja razine enzima PGI, PGII i G17 i nalaza pojedinih stupnjeva patohistoloških promjena: atrofije i intestinalne metaplazije u 5- godišnjem vremenskom intervalu
4. procijeniti ulogu serološke metode utvrđivanja razine enzima PGI, PGII i G17 u utvrđivanju prisutnosti različitih stupnjeva premalignih promjena: atrofije i intestinalne metaplazije nakon provedene eradikacijske terapije.

4. MATERIJALI (ISPITANICI) I POSTUPCI

U probiru bolesnika za uključivanje u studiju analizirana je baza podataka Referalnog centra za istraživanje *H. pylori* infekcije pri KB Merkur. Od 2846 bolesnika registriranih u bazi 186 bolesnika je zadovoljavao uključne kriterije za provođenje daljih ispitivanja. Ispitivanje se provodilo u sklopu Projekata Ministarstva znanosti i tehnologije te Medicinskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu broj 108-0000000-3114: "*H. pylori* infekcija – evolucija bolesti i novi terapijski postupci" i 0108126: "Evolucija promjena vezanih uz *H. pylori* infekciju" (Voditelj Projekata: Prof dr. sc. Miroslava Katičić).

Svi ispitanici prije pristupanja postupku ispitivanja bili su upoznati s tijekom i svrhom ove studije te potpisali informirani pristanak. Ispitivanje se provodilo s

odobrenjem Etičkog povjerenstva KB Merkur i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu uz osigurano poštivanje temeljnih etičkih i bioetičkih principa – osobni integritet (autonomnost), pravednost, dobročinstvo i neškodljivost – u skladu s Nürnberškim kodeksom i najnovijom revizijom Helsinške deklaracije.

Prilikom svakog pregleda bolesnicima koji se rutinski javljaju u Endoskopski laboratorij Referalnog centra za istraživanje *H. pylori* infekcije prema usvojenom protokolu istraživanja ranije provodi se strukturirani interwiev, učini se endoskopski pregled – ezofagogastroduodenoskopija s uzimanjem uzoraka za histološku i mikrobiološku analizu te izvadi i pohrani uzorak seruma. Strukturirani intewiev namijenjen je dobivanju anamnestičkih podataka o sadašnjoj i ranijim bolestima, obiteljskoj anamnezi o bolestima probavnih organa, navikama i primijenjenoj terapiji.

4.1 Protokol studije

Uključni kriteriji bolesnika za ovo ispitivanje su:

1. dob ispitanika starija od 18 godina
2. ispitanici koji ranije nisu liječeni eradikacijskom terapijom ili primali inhibitor protonske pumpe i/ili antibiotike unazad 4 tjedna od endoskopskog pregleda
3. *H. pylori* pozitivan nalaz prema nalazu histologije (prisutnost bakterija u patohistološkom preparatu bioptata sluznice antruma i/ili korpusa želuca) i/ili serološke metode Western blot
4. pozitivan nalaz histološkog preparata bioptata antruma i/ili korpusa sluznice želuca za atrofiju i/ili intestinalnu metaplaziju
5. pozitivan informirani pristanak za studiju.

Isključni kriteriji za studiju su:

1. ispitanici mlađi od 18 godina
2. ispitanici ranije liječeni eradikacijskom terapijom za *H. pylori* i/ili primali inhibitor protonske pumpe i/ili antibiotik unatrag 4 tjedna
3. ispitanici s ranije učinjenim operativnim zahvatom na jednjaku ili želucu
4. nepotpisani informirani pristanak za studiju.

Kod svih bolesnika koji su zadovoljavaju uključne kriterije za potrebe analize razmotreni su podaci o endoskopskom nalazu i patohistološkom nalazu uzoraka bioptata antruma i korpusa sluznice želuca:

1. kod uključnja u studiju (utvrđivanje postojanja patohistoloških promjena sluznice želuca i potvrda infekcije bakterijom *H. pylori*)
2. nakon 5 godina od početka studije (praćenje dinamike promjena patohistoloških parametara atrofije i intestinalne metaplazije sluznice želuca).

Radi određivanja prisutnosti serološkog odgovora na antigene virulencije bakterije *H. pylori* metodom Western blot analizirani su uzorci seruma bolesnika dobiveni prilikom prvog pregleda bolesnika.

Zbog određivanja dinamike razine enzima PGI, PGII i G17 prije i nakon primijenjene eradikacijske terapije analizirani su uzorci seruma bolesnika dobiveni

prilikom prvog pregleda i u 5-oj godini od prvog pregleda ELISA metodom GastroPanel®.

Potvrda *H. pylori* infekcije provedena je:

1. patohistološkim pregledom bioptata antruma i korpusa sluznice želuca kod prvog i kontrolnih pregleda (nakon 4-6 tjedana od kraja terapije i u 5-oj godini od prvog pregleda)
2. serološkom metodom Western blot kod prvog pregleda.

Kod ispitanika koji zadovoljavaju uključne kriterije (*H. pylori* pozitivni ispitanici s prisutnim patohistološkim promjenama atrofije i/ili intestinalne metaplazije) provedena je standardna trojna eradikacijska terapija (inhibitorom protonske pumpe u standardnoj dozi pantoprazol 2x 20 mg dnevno + amoksicilin 2x 1000 mg dnevno + klaritromicin 2x 500 mg dnevno ili metronidazol 2x 400 mg kroz 7 dana) u jednom ili više ciklusa terapije. Uspjeh terapije prema protokolu znanstvenog projekta evaluiran je nakon 4-6 tjedana od svakog ciklusa terapije, a za potrebe ove studije eradikiranim su se smatrali bolesnici s negativnim patohistološkim nalazom *H. pylori* u 5-oj godini od prvog pregleda. Obrnuto, pozitivan nalaz patohistološke analize bioptičkih uzoraka antruma i korpusa sluznice za postojanje *H. pylori* u 5-oj godini smatran je neuspjehom eradikacijske terapije.

Dinamika patohistoloških promjena parametara atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije kod *H. pylori* inficiranih bolesnika u 5-godišnjem intervalu promatrana je usporedbom dinamike promjena kod uspješno eradikiranih (*H. pylori*

negativni u 5-oj godini) i neuspješno eradikiranih (*H. pylori* pozitivni u 5-oj godini) bolesnika.

U studijama ovog tipa kao model bilo bi ispravno kao kontrolnu skupnu definirati *H. pylori* pozitivne bolesnika liječene placebom nasuprot liječenih eradikacijskom terapijom. Međutim, zbog činjenice da se radi o bolesnicima a premalignim promjenama sluznice želuca, dugom vremenskom intervalu praćenja (5 godina) te činjenici da se radi o infekciji dokazanim karcinogenom I reda (*H. pylori*) za kojeg postoji djelotvorna eradikacijska terapija, smatramo da bi takvo ispitivanje bilo neetično. S druge strane ranija nastojanja provedena takvih studija otkazana su zbog neetičnosti i lošeg novačenja bolesnika.²⁰⁹

4.2 Ezofagogastroduodenoskopija

Ezofagogastroduodenoskopija (FEGD) je učinjena s Olympus ezofagogastroduodenoskopima prema uobičajenoj rutinskoj proceduri. Bolesnici su prije pretrage natašte u trajanju barem 8 sati. Prilikom pregleda registriraju se endoskopske promjene, a prema endoskopskom nalazu – endoskopska dijagnoza se klasificira je u pet kategorija:

1. uredan nalaz: N
2. duodenalni ulkus: D
3. želučani ulkus: V

Pri svakom pregledu bioptičkim klješticama uzima se 6 bioptičkih uzoraka sluznice želuca:

1. 2 ciljana bioptička uzorka prednje i stražnje stjenke sluznice antruma želuca
2. 2 ciljana bioptička uzorka iz prednje i stražnje stjenke sluznice korpusa želuca
3. po jedan ciljani uzorak sluznice antruma i korpusa želuca za mikrobiološku analizu.

Uzorci namijenjeni patohistološkoj analizi pohranjuju se u 4%-tni formalin, a po jedan bioptički uzorak sluznice antruma i korpusa u transportnu podlogu za izolaciju bakterije *H. pylori*.

Uzorak venske krvi (8 mL) se centrifugira i serum pohranjuje u hladnjaku na -70 st C do analize.

4.3 Patohistološka analiza sluznice želuca

Uzorci namijenjeni patohistološkoj analizi fiksirani su u standardnom 4% neutralnom puferiranom formalinu, uklapani u parafin, serijski izrezani u rezove debljine 3 mikrona. Rezovi su rutinski obojeni:

1. hemalaun-eozinom za standardnu histološku analizu

2. PAS (*engl.* periodic acid Schiff)-alcijan plavilom za dokaz intestinalne metaplazije
3. modificiranim 2% Giemsa ili Warthin- Starry bojenjem za određivanje stupnja mukozne kolonizacije s *H. pylori*²¹⁰

Svaki uzorak mikroskopski je analiziran prema modificiranoj Sydney- skoj klasifikaciji gastritisa.^{162,163} Osobita se pozornost obratila na: prisutnost i količinu *H. pylori*, prisutnost mononuklearnih upalnih stanica (inflamacija), prisutnost neutrofila (aktivnost) te prisutnost atrofije i intestinalne metaplazije. Zastupljenost svakog od parametara je stupnjevana prema kriterijima modificirane Sydney- ske klasifikacije gastritisa (0=nema, 1= rijetko, 2= osrednje, 3= obilno).

Za svaku lokalizaciju (antrum i korpus) u ovom ispitivanju obradom podataka u obzir je uzet nalaz s višim stupnjem patohistoloških promjena atrofičnog gastritisa i/ili intestinalne metaplazije.

Radi bolje procjene ekstenzivnosti patohistoloških promjena atrofični gastritis i intestinalna metaplazija analizirani su i prema OLGA sistemu.

4.4 Western blot

Serološke metoda Western blot (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Lubeck) provedena prema uputama proizvođača.²¹¹ Navedenom metodom utvrđena je prisutnost antitijela klase IgG za *H. pylori* specifične i nespecifične antigene – čimbenike virulencije bakterije *H. pylori*.

Prema uputi proizvođača 16 antigena (proteina) bakterije *H. pylori* podijeljena su u tri kategorije prema specifičnosti za bakteriju:

1. **kategorija 1:** antigeni koji su nedefinirani i moguća je unakrsna reaktivnost s drugim bakterijama: p13, p41, p50, p54 (flagelin), p57(HSP homolog; *engl.* Heat Shock Protein homolog), p67 (FSH; *engl.* Flagellar Sheath Protein) i p75;
2. **kategorija 2:** antigen p66 (teška podjedinica enzima ureaze - UreB);
3. **kategorija 3:** specifični antigeni za bakteriju *H. pylori*: p17, p19 (OMP; *engl.* Outer Membrane Protein), p26, p29 (laka podjedinica enzima ureaze – UreA), p30 (OMP), p33, p95 (VacA) i p120 (CagA).

Svaka trakica za testiranje sadržava ranije navedene, gel elektroforezom odvojene antigene - ekstrakte prethodno izolirane bakterije *H. pylori*.^{212,213} Za svaki kit uključena je u paket i trakica inkubirana s referentnim pozitivnim serumom (referentna trakica za potvrđivanje pozitivnog nalaza ispitivanja).

Za infekciju bakterijom *H. pylori* nalaz se smatrao pozitivnim u slučaju kada su minimalno dva rezultata prisutnosti antitijela na proteine iz kategorije 3 pozitivna. Negativan nalaz definiran je odsustvom prisutnosti antitijela na sve proteine ili slaba reakcija s nekim proteinima iz kategorija 1 i/ili 2 ili slaba reakcija s jednim proteinom iz kategorije 3. Graničan nalaz definiran je prisutnošću antitijela na jedan protein iz kategorije 3 ili slabom reakcijom s barem 2 proteina iz kategorije 3.

Prilikom izvođenja ispitivanja pripravljena je otopina univerzalnog pufera i destilirane vode u omjeru 1:10. Serumi ispitanika se otope na sobnoj temperaturi te razrijede s otopinom univerzalnog pufera (u originalnom pakiranju kita za testiranje) u omjeru 1:51. Trakice se postavljaju u za to predviđene jažice i inkubiraju s 1.5 mL otopine univerzalnog pufera kroz 15 minuta na tresilici. Nakon aspiracije univerzalnog pufera svakoj jažici s trakicom za testiranje dodaje se 1.5 mL otopine odgovarajućeg ispitanikovog seruma i inkubira 30 minuta na tresilici. Učinjena je aspiracija otopine seruma i jažice isprane (tri puta) sa otopinom univerzalnog pufera (kroz 5 minuta na tresilici). Enzimski konjugat alkalne fosfataze povezan s anti-humanim IgG razrijeđen je s otopinom univerzalnog pufera u omjeru 1:10. Jažicama s trakicama za testiranje dodano je 1.5 mL otopine enzimskog konjugata uz inkubaciju na tresilici kroz 30 minuta. Jažice su aspirirane i isprane (tri puta) s otopinom univerzalnog pufera (kroz 5 minuta na tresilici). Svakoj jažici dodana je otopina enzimskog supstrata (nitrobluetetrazoliumklorid/5-bromo-4-kloro-3-indolilfosfat; NBT/BCIP) uz inkubaciju 10 minuta na tresilici. Jažice su aspirirane i isprane destiliranom vodom. Nakon sušenja na sobnoj temperaturi rezultat je vizualno očit, usporedbom prisutnosti obojenih polja s odgovarajućim pozitivnim antigenim poljima na referentnoj trakici inkubiranoj s pozitivnim serumom (uključena u paket a testiranje). Na svakoj trakici za testiranje nalazio se i kontrolno polje kojim se testira ispravnost provedbe testiranja (u slučaju ispravne provedbe polje se oboji u tamno ljubičasto).

4.4.1 Kemikalije i uređaji

Korišteni su Western blot paketi za serološko testiranje na prisutnost antigena bakterije *H. pylori* (Westernblot, Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG,

Lubeck).²¹¹ Paket uključuje: 16 trakica za testiranje s elektroforetski odvojenim poljima antigena bakterije *H. pylori* (p 120(CagA), p95 (VacA), p75, p67 (flagelin), p66 (UreB), p57 (HSP homolog-*engl.* heat shock protein homolog), p54, p50, p41, p33, p30 (OMP- *engl.* outer membrane protein), p29 (UreA), p26, p19 (OMP), p17 i p13), jednu referentnu trakicu inkubiranu s pozitivnim serumom, otopinu enzimskog konjugata alkalne fosfataze povezane s anti- humanim IgG, otopinu enzimskog supstrata (nitrobluetetrazoliumklorid/5-bromo-4-kloro-3-indolilfosfat; NBT/BCIP), jažice za inkubaciju, koncentrat univerzalnog pufera. Inkubacije su provođene na tresilici na sobnoj temperaturi.

4.5 Određivanje razine enzima PGI, PGII i G17

Serumska razina enzima PGI, PGII i G17 određena je ELISA (*engl.* Enzyme Linked Immunosorbent Assay) metodom GastroPanel[®] prema uputi proizvođača (Biohit Oyj, Helsinki, Finska).²¹⁴ Test je baziran kvantitativnoj sendvič-enzim-imunoesej tehnici sa, za testirani enzim, specifičnim protutijelom vezanim za dno jažice i detekcijom putem antitijela obilježenog hrenovom peroksidazom. Normalne razine navedenih enzima su: PGI 25-100 µg/L, PGII 2-10 µg/L i G17 2.5-7.5 pmol/L.

Bolesnicima koji su natašte barem 8 sati prije uzimanja venske krvi centrifugiranjem (2000 G, 10-15 minuta) je odvojen serum i pohranjen na -70 st. C do analize. Prije analize serum bolesnika je otopljen na sobnoj temperaturi i protresen.

4.5.1 Određivanje razine PGI

Na početku testa pripremljena je razrijeđena otopina pufera za ispiranje u omjeru 1:10 s destiliranom vodom. Svi serumi i reagensi otopljeni su na sobnoj temperaturi i promiješani prije upotrebe. Serumi ispitanika razrijeđeni su s puferom za razrjeđivanje u omjeru 1:10 i dobro promiješani. Pipetirano je 100 μ L čiste otopine, kalibratora 1-3, kontrole i razrijeđenih seruma bolesnika i pohranjeno u zasebne jažice. Sve navedeno provođeno je u duplikatu. Jažice pločica za ispitivanje obložene su visokoafinitetnim monoklonalnim anti-humanim PGI IgG₁. Potom je provedena inkubacija u trajanju 60 minuta na temperaturi od 37 st. C. Jažice su 3 puta isprane s 350 μ L razrijeđene otopine pufera za ispiranje. Pipetirano je 100 μ L otopine konjugata i inkubirano 30 minuta na temperaturi od 37 st. C. Nakon toga jažice su 3 puta isprane s 350 μ L razrijeđene otopine pufera za ispiranje. Pipetirano je 100 μ L otopine supstrata i inkubirano u trajanju 30 minuta na sobnoj temperaturi uz izbjegavanje izlaganja svjetlosti. Pipetirano je 100 μ L otopine za zaustavljanje reakcije. Na kraju je izmjerena apsorbancija na 450 nm u vremenu 30 minuta.

Rezultati apsorbancije su konvertirani u nalaz razine enzima manualnom metodom. Pri tome se izračuna srednja vrijednost apsorbancija parnih seruma jednog ispitanika, dvostruke vrijednosti čiste otopine, sva 3 kalibratora (1-3) i kontrolne otopine. Iscrta se kalibratorska krivulja u grafu sačinjenom od x osi - PGI koncentracija (μ g/L) te y osi - apsorbancija (450nm) pomoću vrijednosti apsorbancije za čistu otopinu (minus vlastita vrijednost čini prvu točku kalibratorske krivulje), apsorbancije kalibratora (kalibrator 1 odgovara razini 25, kalibrator 2: 100, a kalibrator 3: 200 μ g/L PGI) i kontrole (razina PGI otisnuta na bočici od strane proizvođača). Na kraju se iz kalibracijske krivulje za svakog bolesnika očita serumska razina PGI prema testom dobivenoj srednjoj razini apsorbancije za istog ispitanika.

4.5.1.1 Kemikalije i uređaji

Korišteni su GastroPanel® (Biohit Oyj, Helsinki, Finska) testovi. Paket uključuje 96 jamica u okviru obloženih s visokoafinitetnim monoklonalnim antihumanim PGI IgG₁, koncentrat pufera za ispiranje (fosfatni slani pufer; PBS), pufer za razrjeđivanje (fosfatni pufer koji sadrži goveđi serumski albumin i ekstrakt crvene boje), čistu otopinu (fosfatni pufer baziran na humanom serumu), kalibratore (tri posudice kalibratora baziranih na humanom serumu, kalibratori imaju za partiju specifične PGI razine 25, 100 i 200 µg/L), kontrola (PGI kontrola bazirana na humanom serumu, očekivana razina PGI za kontrolu je označena na posudici), otopina konjugata (monoklonalno anti-humano-PGI obilježeno s hrenovom peroksidazom), otopina supstrata (tetrametilbenzidin; TMB), zaustavna otopina (sumporna kiselina).

4.5.2 Određivanje razine PGII

Na početku testa pripremljena je razrijeđena otopina pufera za ispiranje u omjeru 1:10 s destiliranom vodom. Svi serumi i reagensi otopljeni su na sobnoj temperaturi i promiješani prije upotrebe. Kada su serumi gotovo otopljeni dalje se tokom ispitivanja epruvete drže u mrvljenom ledu. Serumi ispitanika razrijeđeni su s puferom za razrjeđivanje u omjeru 1:5 i dobro promiješani. Pipetirano je 100µL čiste otopine, kalibratora 1-3, kontrole i razrijeđenih seruma bolesnika i pohranjeno u zasebne jažice. Sve navedeno provođeno je u duplikatu. Jažice pločica za ispitivanje obložene su visokoafinitetnim monoklonalnim anti-humanim PGII IgG₁. Potom je provedena inkubacija u trajanju 60 minuta na sobnoj temperaturi. Jažice su isprane 3 puta s 350 µL razrijeđene otopine pufera za ispiranje. Pipetirano je 100 µL otopine

konjugata i inkubirano 60 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga jažice su 3 puta isprane s 350 μ L razrijeđene otopine pufera za ispiranje. Pipetirano je 100 μ L otopine supstrata i inkubirano u trajanju 30 minuta na sobnoj temperaturi uz izbjegavanje izlaganja svjetlosti. Pipetirano je 100 μ L otopine za zaustavljanje reakcije. Na kraju je izmjerena apsorbancija na 450 nm u vremenu 30 minuta.

Rezultat apsorbancije se konvertiran je u nalaz razine enzima manualnom metodom. Pri tome se izračuna se srednja vrijednost apsorbancija parnih seruma jednog ispitanika, dvostruke vrijednosti čiste otopine, sva 3 kalibratora (1-3) i kontrolne otopine. Iscrta se kalibratorska krivulja u grafu sačinjenom od x osi - PGII koncentracija (μ g/L) te y osi - apsorbancija (450nm) pomoću vrijednosti apsorbancije za čistu otopinu (minus vlastita vrijednost čini prvu točku kalibratorske krivulje), apsorbancije kalibratora (kalibrator 1 odgovara razini 6.3, kalibrator 2: 12.5, a kalibrator 3: 50 μ g/L PGII) i kontrole (razina PGII otisnuta na bočici od strane proizvođača). Na kraju se iz kalibracijske krivulje za svakog bolesnika očita serumska razina PGII prema testom dobivenoj srednjoj razini apsorbancije za istog ispitanika.

4.5.2.1 Kemikalije i uređaji

Korišteni su GastroPanel[®] (Biohit Oyj, Helsinki, Finska) testovi. Paket uključuje 96 jamica u okviru obloženih s visokoafinitetnim monoklonalnim antihumanim PGI IgG₁, koncentrat pufera za ispiranje, pufer za razrjeđivanje (fosfatni pufer koji sadrži kazein i ekstrakt crvene boje), čistu otopinu (fosfatni pufer baziran na humanom serumu), kalibratore (tri posudice kalibratora baziranih na humanom serumu, kalibratori imaju za partiju specifične PGII razine 6.3, 12.5 i 50 μ g/L), kontrola (PGII kontrola bazirana na humanom serumu, očekivana razina PGII za kontrolu je

označena na posudici), otopina konjugata (monoklono anti-humano-PGII obilježeno s hrenovom peroksidazom), otopina supstrata (tetrametilbenzidin; TMB), zaustavna otopina (sumporna kiselina).

4.5.3 Određivanje razine G17

Na početku testa pripravljena je razrijeđena otopina pufera za ispiranje u omjeru 1:10 s destiliranom vodom te razrijeđena otopina konjugata u omjeru 1:100 s puferom za razrjeđivanje konjugata. Svi serumi i reagensi otopljeni su na sobnoj temperaturi i promiješani prije upotrebe. Kada su serumi gotovo otopljeni dalje se tokom ispitivanja epruvete drže u mrvljenom ledu. Serumi ispitanika razrijeđeni su s puferom za razrjeđivanje u omjeru 1:2 i dobro promiješani. Pipetirano je 100 µL čiste otopine, kalibratora 1-3, kontrole i razrijeđenih seruma bolesnika i pohranjeno u zasebne jažice obložene s visokoafinitetnim monoklono anti-humanim G17 peptidom pločice za ispitivanje. Sve navedeno provođeno je u duplikatu. Potom je provedena inkubacija u trajanju 60 minuta na temperaturi 37 st. C. Jažice su isprane 3 puta s 350 µL razrijeđene otopine pufera za ispiranje. Pipetirano je 100 µL razrijeđene otopine konjugata i inkubirano 60 minuta na temperaturi 37 st. C. Nakon toga jažice su 3 puta isprane s 350 µL razrijeđene otopine pufera za ispiranje. Pipetirano je 100 µL otopine supstrata i inkubirano u trajanju 30 minuta na sobnoj temperaturi uz izbjegavanje izlaganja svjetlosti. Pipetirano je 100 µL otopine za zaustavljanje reakcije. Na kraju je izmjerena apsorbancija na 450 nm u vremenu 30 minuta.

Rezultat apsorbancije je konvertiran u nalaz razine enzima manualnom metodom. Pri tome se izračuna se srednja vrijednost apsorbancija parnih seruma jednog ispitanika, dvostruke vrijednosti čiste otopine, sva 3 kalibratora (1-3) i

kontrolne otopine. Iscrta se kalibratorska krivulja u grafu sačinjenom od x osi – G17 koncentracija (pmol/L) te y osi - apsorbancija (450nm) pomoću vrijednosti apsorbancije za čistu otopinu (minus vlastita vrijednost čini prvu točku kalibratorske krivulje), apsorbancije kalibratora (kalibrator 1 odgovara razini 5, kalibrator 2: 10, a kalibrator 3: 40 pmol/L G17) i kontrole (razina G17 otisnuta na bočici od strane proizvođača). Na kraju se iz kalibracijske krivulje za svakog bolesnika očitava serumska razina G17 prema testom dobivenoj srednjoj razini apsorbancije za istog ispitanika.

4.5.3.1 Kemikalije i uređaji

Korišteni su GastroPanel® (Biohit Oyj, Helsinki, Finska) testovi. Paket uključuje 96 jamica u okviru obloženih s visokoafinitetnim monoklonalnim antihumanim G17 peptidom, koncentrat pufera za ispiranje (fosfatni slani pufer; PBS), pufer za razrjeđivanje seruma (fosfatni pufer koji sadrži blokirajući protein), čistu otopinu (fosfatni pufer), kalibratore (tri posudice kalibratora u fosfatnom puferu, kalibratori imaju za partiju specifične G17 razine 5, 10 i 40 pmol/L), kontrola (G17 kontrola u fosfatnom puferu, očekivana razina G17 za kontrolu je označena na posudici), otopina konjugata (anti-humani G17 obilježeno s hrenovom peroksidazom), razrjeđivač konjugata (otopina fosfatnog pufera), otopina supstrata (tetrametilbenzidin; TMB), zaustavna otopina (sumporna kiselina).

4.6 Statistička analiza podataka

U Tabeli 5 prikazan je popis korištenih varijabli i očekivanih rezultata testiranja za svaku varijablu.

Tabela 5. Popis testiranih varijabli i očekivanih rezultata.

VARIJABLA	VRIJEDNOSTI	OPIS
DOB		
SPOL	0- žene 1- muškarci	
USPJEH ERADIKACIJE	0- eradikiran 1- neeradikiran	uspjeh eradikacijske terapije
ATR PP OLGA	0- stadij 1- stadij 2- stadij 3- stadij 4- stadij	stadij histološkog nalaza ATROFIJE (ATR) po OLGA sistemu PRVI PREGLED (PP) (integrira nalaza antruma i korpusa želuca)
ATR Ko OLGA	0- stadij 1- stadij 2- stadij 3- stadij 4- stadij	stadij histološkog nalaza ATROFIJE (ATR) po OLGA sistemu KONTROLA (Ko) (integrira nalaza antruma i korpusa želuca)
DIN ATR OLGA	0- bez dinamike 1- regresija 2- progresija	promjena nalaza ATR PP OLGA i ATR Ko OLGA
IM PP OLGA	0- stadij 1- stadij 2- stadij 3- stadij 4- stadij	stadij histološkog nalaza INTESTINALNE METAPLAZIJE (IM) po OLGA Prvi Pregled (PP) (integrira nalaza antruma i korpusa želuca)
IM Ko OLGA	0- stadij 1- stadij 2- stadij 3- stadij 4- stadij	stadij histološkog nalaza INTESTINALNE METAPLAZIJE (IM) po OLGA KONTROLA (Ko) (integrira nalaza antruma i korpusa želuca)
DIN IM OLGA	0- bez dinamike 1- regresija 2- progresija	promjena nalaza IM PP OLGA i IM Ko OLGA
ATR K PP	0- nema 1- stupanj 2- stupanj 3- stupanj	ATROFIJA KORPUS (K) Prvi Pregled (PP)
ATR K Ko	0- nema 1- stupanj 2- stupanj 3- stupanj	ATROFIJA KORPUS (K) Kontrola (Ko)
DIN ATR K	0- bez dinamike 1- regresija 2- progresija	promjena nalaza ATR K-PP i ATR K Ko
ATR A PP	0- nema 1- stupanj 2- stupanj 3- stupanj	ATROFIJA ANTRUM Prvi Pregled (PP)
ATR A Ko	0- nema 1- stupanj 2- stupanj 3- stupanj	ATROFIJA ANTRUM Kontrola (Ko)

VARIJABLA	VRIJEDNOSTI	OPIS
DIN ATR A	0- bez dinamike 1- regresija 2- progresija	promjena nalaza ATR A-PP i ATR AKo
IM K PP	0- 0 nema 1- stupanj 2- stupanj 3- stupanj	INTESTINALNA METAPLAZIJA KORPUS Prvi Pregled (PP)
IM K Ko	0- nema 1- stupanj 2- stupanj 3- stupanj	INTESTINALNA METAPLAZIJA KORPUS Kontrola (Ko)
DIN IM K	0- bez dinamike 1- regresija 2- progresija	promjena nalaza IM K PP i IM K Ko
IM A PP	0- nema 1- stupanj 2- stupanj 3- stupanj	INTESTINALNA METAPLAZIJA ANTRUM Prvi Pregled (PP)
IM A Ko	0- nema 1- stupanj 2- stupanj 3- stupanj	INTESTINALNA METAPLAZIJA ANTRUM Kontrola (Ko)
DIN IM A	0- bez dinamike 1- regresija 2- progresija	promjena nalaza IM A PP i IM A Ko
DIJAGNOZA	0- uredan nalaz 1- želučani ulkus 2- duodenalni ulkus	endoskopski nalaz
P120 (CagA)	0- neg 1- poz	čimbenik virulencije bakterije p120 (CagA)
P95 (VacA)	0- neg 1- poz	čimbenik virulencije bakterije p95 (VacA)
P30 (OMP)	0- neg 1- poz	čimbenik virulencije bakterije p30 (OMP)
P29 (UreA)	0- neg 1- poz	čimbenik virulencije bakterije p29 (laka podjedinica UreA)
P26	0- neg 1- poz	čimbenik virulencije bakterije p26
P19 (OMP)	0- neg 1- poz	čimbenik virulencije bakterije p19 (OMP)
PG I PP		Pepsinogen I prvi pregled (PP)
PG I Ko		Pepsinogen I kontrola (Ko)
PG I/II PP		Pepsinogen I/II prvi pregled
PG I/II Ko		Pepsinogen I/II kontrola
G17 PP		Gastrin 17 prvi pregled
G 17 Ko		Gastrin 17 kontrola

Numeričke varijable opisane su centralnom vrijednosti i mjerom raspršenosti što je uvjetovano distribucijom podataka (srednja vrijednost i standardna devijacija, $X \pm SD$ ili medijan i interkvartilni raspon). Učestalosti su prikazane odgovarajućim granicama pouzdanosti. Distribucije su prikazane grafički i tablično.

Numeričke varijable testirane su na normalnost raspodjele Kolmogor-Smirnovim testom.

Za testiranje razlika između grupa korišteni su parametrijski testovi (t-test, ANOVA i drugi) u slučaju normalne raspodjele ili homogenosti varijance. U slučaju odstupanja od normalne raspodjele koristili su se neparametrijski testovi (Mann-Whitney U ili Kruskal-Walis).

Za usporedbu nominalnih kategorijskih varijabli korišten je Hi-kvadrat test ili Fisher-ov egzaktni test, a za ordinalne Mann-Whitney U ili Kruskal-Walis test.

Za testiranje hipoteze koristio se dvosmjerni t-test za zavisne uzorke u slučaju normalne distribucije, a u slučaju odstupanja od normalne distribucije Wilcoxon rank sum test za zavisne uzorke. Razina statističke značajnosti postavljena je na 0.05 (5%) dok je razina statističke značajnosti između 0.05 i 0.1 (5 -10%) označena kao granična.

Obrada podataka učinjena je programskim paketom SPSS ver.14 (licenca HZJZ).

5. OČEKIVANI ZNANSTVENI DOPRINOS RADA

Ovim istraživanjem želi se doprinijeti u:

1. utvrđivanju značaja uspješne eradikacije bakterije *H. pylori* na regresiju premalignih promjena sluznice želuca: atrofije i intestinalne metaplazije u dužem vremenskom intervalu (5 godina)
2. utvrđivanju uloge prisutnosti čimbenika virulencije bakterije *H. pylori* na regresiju patohistoloških premalignih promjena: atrofije i intestinalne metaplazije u dužem vremenskom intervalu (5 godina)
3. utvrđivanju dinamike serumskih razina enzima PGI, PGII i G17 prije i 5 godina nakon provedene eradikacijske terapije
4. utvrđivanju korelacije rezultata patohistološke analize o zastupljenosti pojedinih stupnjeva premalignih promjena: atrofije i intestinalne metaplazije sa serumskom razinom enzima PGI, PGII i G17 prije i nakon provedene eradikacijske terapije. Rezultati patohistološke pretrage sluznice želuca analizirat će se odvojeno za pojedine endoskopske lokalizacije (antrum i korpus želuca) uz utvrđivanje razine sva tri enzima PGI, PGII i G17 što sveobuhvatno nije učinjeno u do sada objavljenim studijama. U bolesnika sa zastupljenim premalignim promjenama ovim istraživanjem utvrdili bismo mogućnost primjene neinvazivnog-serološkog određivanja razine enzima PGI, PGII i G17 s ciljem otkrivanja i praćenja bolesnika (nakon provedene eradikacijske terapije) s povećanim rizikom progresije premalignih promjena. Homogenost ispitivane populacije bolesnika, obzirom na teritorijalnu pripadnost u okviru naše zemlje, predstavlja specifičnost koja dozvoljava donošenje

nacionalnog stava u vezi s nekim od analiziranih postupaka. Dosadašnje studije provedene su uglavnom u azijskim zemljama s velikom incidencijom karcinoma želuca. Neke studije su provedene multicentrično s velikom heterogenosti populacije obzirom na teritorijalnu pripadnost. Zbog svega navedenog, zaključci o vrijednosti određenih postupaka ne moraju biti adekvatni za našu populaciju bolesnika koja se razlikuje teritorijalno, a kroz to i po kao što su: učestalost *H. pylori* infekcije, učestalost pojedinih čimbenika virulencije bakterije, zastupljenost premalignih promjena sluznice želuca, genetski faktori populacije, navike i faktori okoline. Studija je provedena na dovoljno velikom broju bolesnika i kroz dulji vremenski period koji dozvoljava donošenje relevantnih zaključaka.

6. REZULTATI

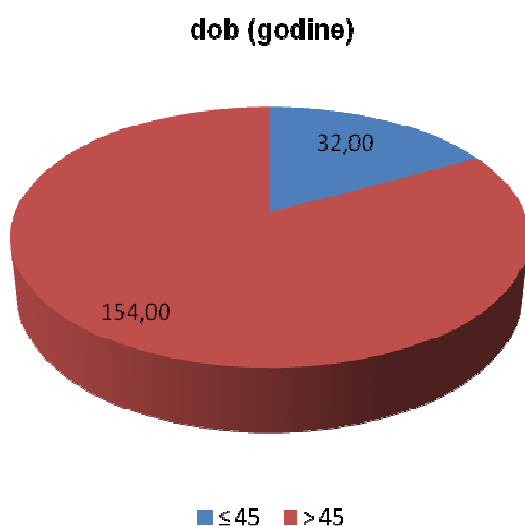
6.1 Početne karakteristike ispitanika

U ispitivanje je uključeno 186 ispitanika s prisutnom infekcijom bakterijom *H. pylori*. *H. pylori* pozitivitet dokazan je serološkom (Western blot) i patohistološkom analizom bioptata sluznice želuca. Ovdje su prikazane deskriptivne varijable ispitanika značajne za ovo ispitivanje.

Numeričke varijable testirane su na normalnost raspodjele Kolmogorov-Smirnovim testom. Samo je varijabla razine enzima PGI u prvom pregledu imala normalnu distribuciju ($p=0.093$). Varijable dob ($p=0.003$), PGI u kontrolnom pregledu

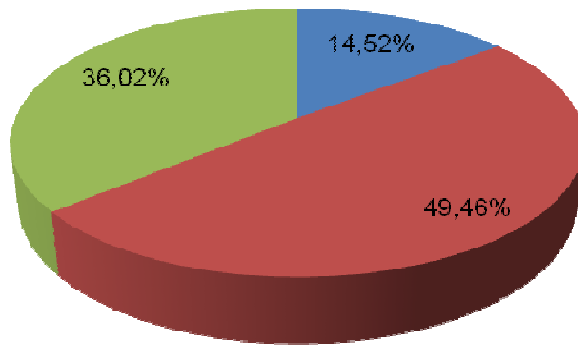
($p=0.010$), PGII u prvom ($p=0.001$) i kontrolnom pregledu ($p<0.001$), omjer PGI/II u prvom ($p=0.009$) i kontrolnom pregledu ($p<0.001$) te G17 u prvom ($p<0.001$) i kontrolnom pregledu ($p<0.001$) imaju distribuciju koja značajno odstupa od normalne raspodjele.

Prema **spolu** ispitivana grupa sadržavala je 99 muškaraca i 87 žena. Svi ispitanici su bili stariji od 18 godina s medianom **dobi** 59 godina (rasponom 29 - 82 godina, IQR (interkvartilni raspon) 48-67 godina). Na Slici 7 prikazana je razdioba bolesnika prema dobi mlađoj od 45 ili višoj od 45 godina.



Slika 7. Razdioba bolesnika prema dobi starijoj ili mlađoj od 45 godina.

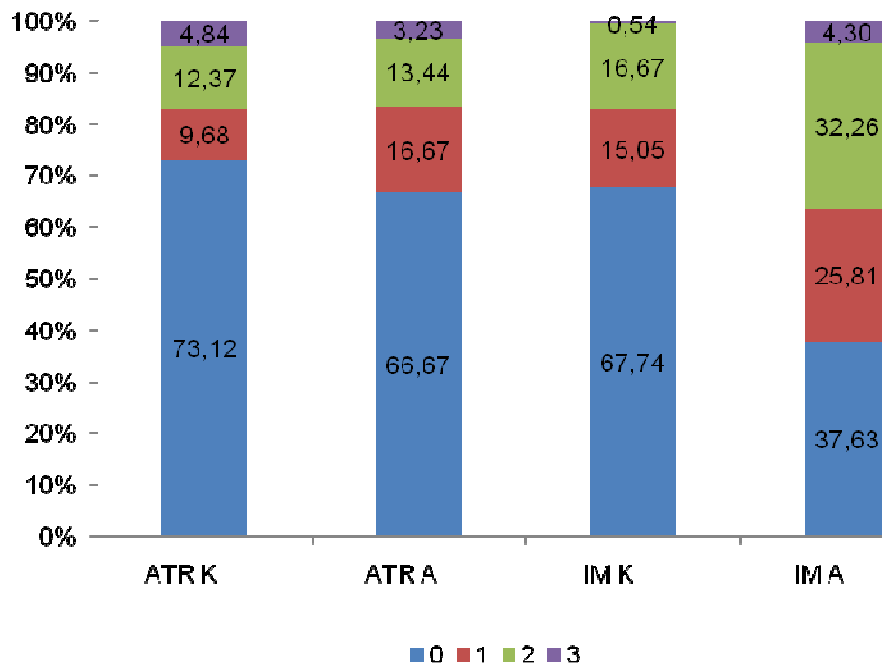
Svim bolesnicima u trenutku prvog pregleda učinjen je **endoskopski pregled**. Prema endoskopskom nalazu sluznice želuca i dvanaesnika u 92 bolesnika utvrđen je ulkus želuca, 67 ulkus dvanaesnika te 27 uredan nalaz (Slika 8).



■ uredan nalaz ■ ulkus želuca ■ ulkus dvanaesnika

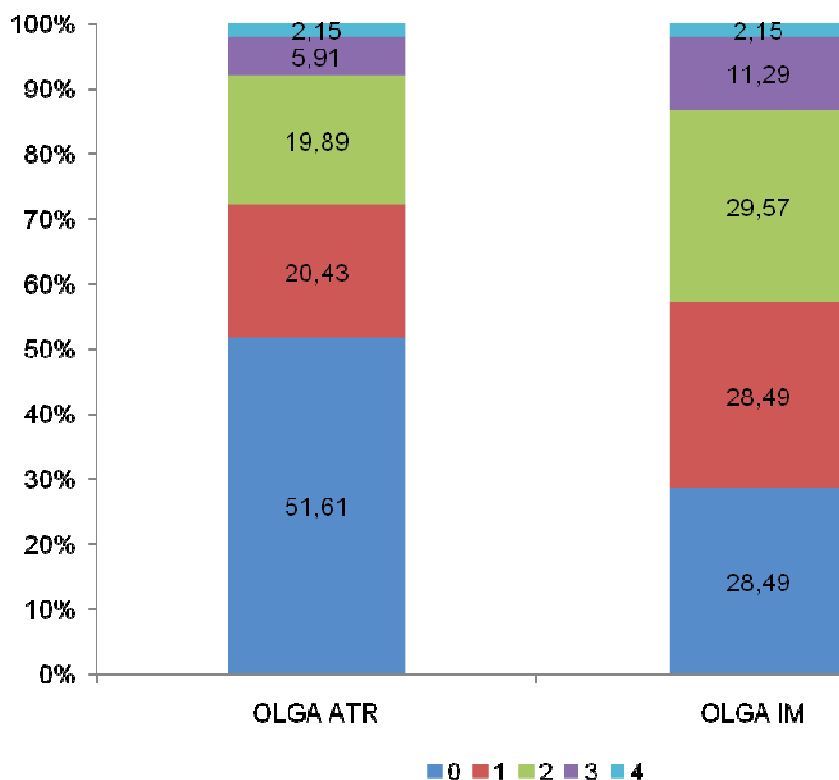
Slika 8 Razdioba bolesnika prema endoskopskom nalazu.

Analizirajući prisutnost atrofičnog gastritisa i/ili intestinalne metaplazije sluznice želuca prema Sydney sistemu u: 50 bolesnika prisutan je atrofični gastritis korpusa želuca, 62 atrofični gastritis antruma, 60 intestinalna metaplazija korpusa i 116 intestinalna metaplazija antruma. Slika 9 prikazuje raspodjelu bolesnika prema zastupljenosti pojedinih stupnjeva atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije u **početnom patohistološkom nalazu** (prema Sydney sistemu).



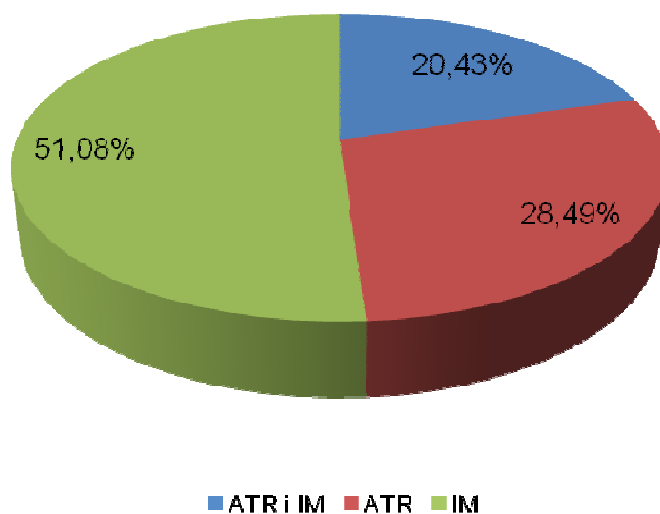
Slika 9. Razdioba bolesnika prema početnom patohistološkom nalazu i prisutnim stupnjevima (0=nema, 1= rijetko, 2= osrednje, 3= obilno) atrofičnog gastritisa (ATR) i/ili intestinalne metaplazije (IM) antruma (A) i korpusa (K) sluznice želuca.

U daljem postupku, nalaz stupnjeva atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije u antrumu i korpusu želuca (prema Sydney sistemu) dodatno je šifriran i analiziran prema OLGA sistemu. U 96 bolesnika prisutan je stadij nula, 39 stadij 1, 37 stadij 2, 11 stadij 3 i 4 stadij 4 atrofičnog gastritisa. Prema nalazu intestinalne metaplazije u 53 bolesnika utvrđen je stadij nula, 53 stadij 1, 55 stadij 2, 21 stadij 3 i 4 stadij 4. Na Slici 10 prikazana je razdioba bolesnika prema prisutnim stadijima atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije klasificiranih prema OLGA sistemu.



Slika 10. Razdioba bolesnika prema zastupljenosti pojedinih stadija (0-1-2-3-4) početnog histološkog nalaza atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) prema OLGA sistemu.

Kod svih bolesnika u početnom patohistološkom nalazu prisutan je barem jedan od parametara: atrofični gastritis i/ili intestinalna metaplazija antruma i/ili korpusa želuca. Isključivo atrofični gastritis prisutan je u 53 (28.49%) bolesnika, a intestinalna metaplazija 95 (51.08%). Obje patohistološke promjene istovremeno su prisutne u 38 (20.43%) bolesnika (Slika 11).



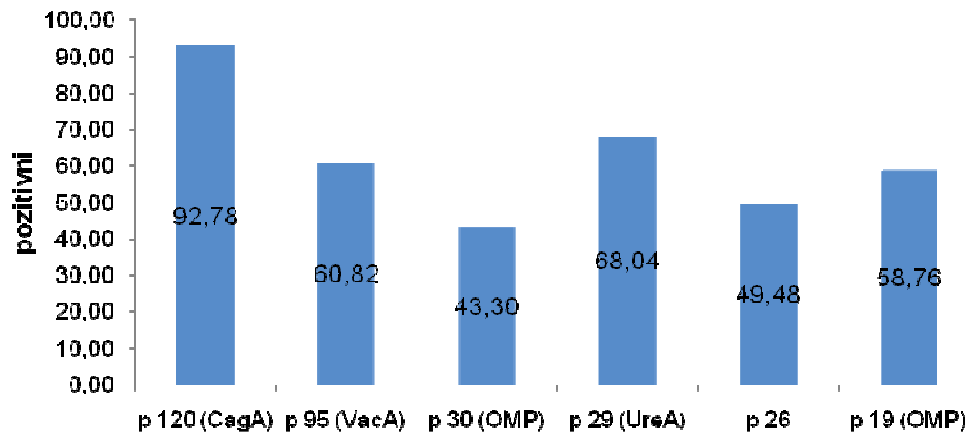
Slika 11. Razdioba ispitanika prema početnom patohistološkom nalazu atrofičnog gastritisa (ATR), intestinalne metaplazije (IM) ili obje (ATR i IM) promjene istovremeno.

Analizirajući razdiobu patohistoloških parametara prema zastupljenosti na pojedinim anatomskim lokalizacijama u 118 (63.44%) bolesnika prisutne su patohistološke promjene na samo jednoj anatomskoj lokalizaciji, a 68 (35.56%) na obje lokalizacije istovremeno. U Tabeli 6 prikazana je razdioba bolesnika prema prisutnosti patohistoloških promjena u početnom nalazu na pojedinim anatomskim lokalizacijama.

Tabela 6. Razdioba patohistoloških promjena u početnom patohistološkom nalazu prema zastupljenosti promjena na pojedinim anatomskim lokalizacijama želuca.

Atrofični gastritis (%)	Intestinalna metaplazija (%)			
	antrum	antrum i korpus	korpus	nema
antrum	9 (4.84)	4(2.15)	-	23 (12.37)
antrum i korpus	5 (2.69)	6 (3.23)	5 (2.69)	9 (4.84)
korpus	5 (2.69)	3 (1.61)	1 (0.54)	21 (11.29)
nema	53 (28.49)	31 (16.67)	11 (5.91)	-

Kod 97 (52.15%) bolesnika na početku je određena prisutnost antitijela na 6 čimbenika virulencije: p120 (CagA), p95 (VacA), p30 (OMP), p29 (UreA), p26, p19 (OMP) bakterije *H. pylori*. Slika 12 prikazuje udjele bolesnika s pozitivnim nalazom antijela na čimbenike virulencije bakterije *H. pylori*.



Slika 12. Udijeli bolesnika s prisutnim antitijelima na 6 čimbenika virulencije: p120 (CagA), p95 (VacA), p30 (OMP), p29 (UreA), p26, p19 (OMP) bakterije *H. pylori*.

U 43 (23.11%) bolesnika određena je razina **enzima PGI i PGII** te izračunat omjer razine enzima PGI i PGII (**PGI/II**). Razina enzima **G17** određena je u 89 (47.84%) bolesnika. U Tabeli 7 prikazana je početna razina enzima PGI, PGII, G17 i omjer PGI/II. Vrijednosti su prikazane su medianom, rasponom (minimalna – maksimalna vrijednost) i rasponom vrijednosti između prve i zadnje kvartile (IQR; interkvartilni raspon).

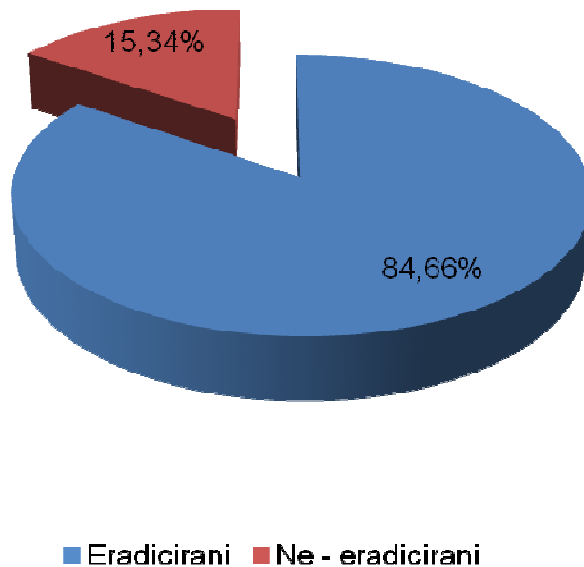
Tabela 7. Početna razina enzima PGI, PGII, PGI/II i G17.

enzim	median	raspon	interkvartilni raspon (IQR)
PGI (n=43)	135	25 - 250	105 - 175
PGII (n=43)	17	4 - 54	12 - 36
PGI/II (n=43)	6	2 - 15	4,43 – 8,75
G17 (n=89)	2	2- 23	2 - 4

Pozitivna **obiteljska anamneza** za karcinom želuca u krvnih srodnika prisutna je u 12 (6.45%) bolesnika.

6.2 Nalaz stupnjeva patohistoloških parametara nakon provedene eradikacijske terapije - kontrolni pregled u 5-oj godini

Nakon početnog pregleda kod svih bolesnika provedena je trojna eradikacijska terapija. Prema nalazu uspijeha eradikacijske terapije u 5-oj godini, uspješno je eradikirana bakterija u 157 (84.66%) ispitanika (Slika 13).



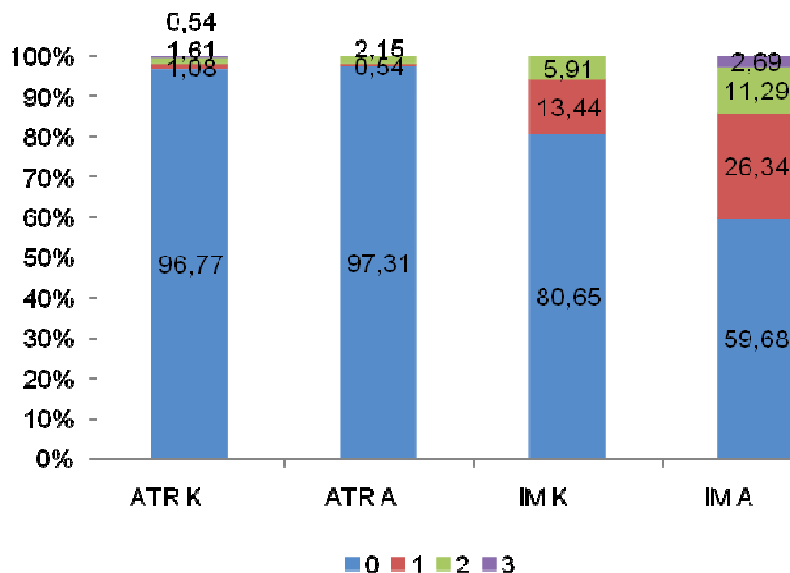
Slika 13. Razdioba bolesnika prema uspjehu eradikacijske terapije u 5-oj godini.

Bolesnici su u 5 godišnjem razdoblju primili prosječno 2 terapije (raspon 1-3). Tabela 8 prikazuje razdiobu ispitanika prema uspjehu terapije i broju primljenih eradikacijskih protokola. Kod bolesnika s neuspješnom eradikacijom bakterije provedeno je statistički značajno više eradikacijskih ciklusa nego u uspješno eradiciranih (χ^2 15.84, df 2, $p < 0.001$).

Tabela 8. Broj provedenih ciklusa eradikacijske terapije ovisno o uspjehu eradikacijske terapije u 5-oj godini.

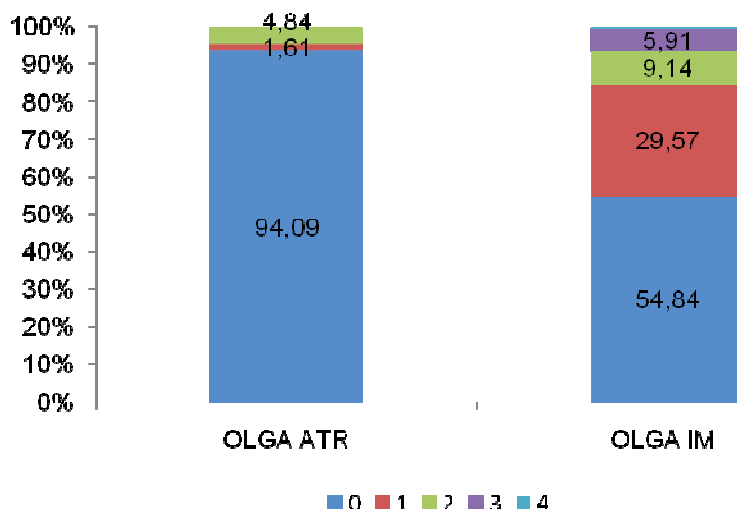
broj terapija	svi (%)	eradicirani (%)	ne- eradikirani (%)
1	143 (76.88)	129 (82.17)	14 (48.28)
2	32 (17.20)	21 (13.38)	11 (37.93)
3	11 (5.91)	7 (4.46)	4 (13.79)
broj bolesnika	186	157	29

U kontrolnom pregledu u 6 bolesnika bio je prisutan atrofični gastritis korpusa, 5 atrofični gastritis antruma, 36 intestinalna metaplazija korpusa i 70 intestinalna metaplazija antruma sluznice želuca. Na Slici 14 prikazana je razdioba bolesnika prema zastupljenosti pojedinih stupnjeva patohistološkog nalaza atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u korpusu (K) i antrumu (A) želuca u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije (analizirano prema Sydney sistemu).



Slika 14. Razdioba bolesnika prema zastupljenosti pojedinih stupnjeva patohistološkog nalaza atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u korpusu (K) i antrumu (A) želuca u 5-oj godini nakon eradikacijske terapije.

Nalaz stupnjeva atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije u antrumu i korpusu želuca (prema Sydney sistemu) dodatno je šifriran i analiziran prema OLGA sistemu. Rezultati analize za atrofični gastritis ukazuju da je u 175 bolesnika prisutan OLGA stadij 1, 3 stadij 1 i 9 stadij 3. Za intestinalnu metaplaziju u 102 bolesnika prisutan je stadij 0, 55 stadij 1, 17 stadij 2, 11 stadij 3 i 1 stadij 4. Na Slici 15 je prikazana razdioba bolesnika prema zastupljenosti pojedinih stadija patohistološkog nalaza atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije (analizirano prema OLGA sistemu).



Slika 15. Razdioba bolesnika prema zastupljenosti pojedinih stadija atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u 5- oj godini nakon provedene eradikacijske terapije (prema OLGA sistemu).

Razlikom stupnjeva patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u antrumu (A) i korpusu (K) u 5-oj godini i početnom nalazu definirana je nova varijabla - **dinamika histološkog parametra (DIN)**. Na taj način stvorene su nove varijable ATR A DIN , ATR K DIN, IM A DIN, IM K DIN, ATR OLGA DIN, IM OLGA DIN.

U slučaju da je razlika stupnjeva:

1. jednaka nuli vrijednost varijable definirana je kao - bez promjene,
2. manja od nule vrijednost varijable definirana je kao – regresija,
3. veća od nule vrijednost varijable definirana je kao – progresija.

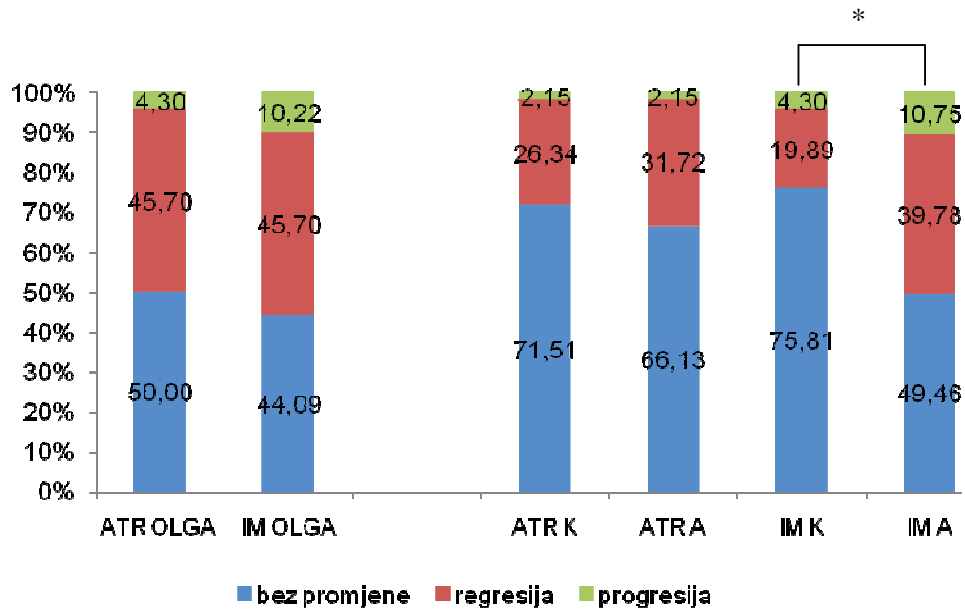
Analizom **dinamike stupnjeva atrofičnog gastritisa korpusa prema Sydney sistemu** u 133 bolesnika nije utvrđena promjena stupnja, u 49 je došlo do regresije,

a 4 progresije. U **antrumu** nije utvrđena promjena stupnja kod 123 bolesnika, u 59 je došlo do regresije, a 4 progresije. Kod bolesnika s **intestinalnom metaplazijom korpusa** u 140 bolesnika nije utvrđena promjena stupnja, u 38 je došlo do regresije, a 8 progresije. U **antrumu** nije utvrđena promjena stupnja u 91, regresija u 74, a progresija u 21- og bolesnika.

Analizom prema **OLGA** sistemu stadij **atrofičnog gastritisa** je bez promjene u 93 bolesnika, regredirao je u 85 bolesnika, a progredirao u 8. Istovjetno za **intestinalnu metaplaziju** stadij je bez promjene u 82 bolesnika, regredirao je u 85, a progredirao u 19.

Na Slici 16 prikazana je dinamika nalaza patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) antruma (A) i korpusa (K) želuca u 5-godišnjem razdoblju (analizirano prema OLGA i Sydney sistemu). Za sve testirane patohistološke parametre na obje anatomske lokalizacije i oba sistema analize dominira udio bolesnika bez dinamike (43.09 – 75.81%) te potom s padom (19.89 – 45.70%) stupnja ili stadija patohistoloških parametara. Udio bolesnika s progresijom nalaza je najmanji i iznosi 2.15 – 10.75%.

Za histološki parametar intestinalnu metaplaziju u korpusu je u odnosu na nalaz u antrumu prisutna je statistički značajna razlika u udjelima bolesnika s različitim tipovima (bez dinamike/regresija/progresija) promjena (X^2 27.792, df 2, $p < 0.001$).



Slika 16. Dinamika (bez promjene, regresija ili progresija) stupnja patohistoloških parametara - atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u 5-godišnjem razdoblju prema Sydney (odvojeno za A - antrum i K - korpus) i stadija prema OLGA sistemu.

6.3 Vrijednosti razine enzima PGI, PGII, omjera PGI/II i G17 u 5 –oj godini nakon provedene eradikacijske terapije

Određivanje razine enzima PGI, PGII te omjera PGI/II u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije učinjeno je u 43, a G17 u 89 bolesnika. U Tabeli 9. prikazane su vrijednosti razine enzima PGI, PGII i G17 te omjer PGI/II u 5–oj godini.

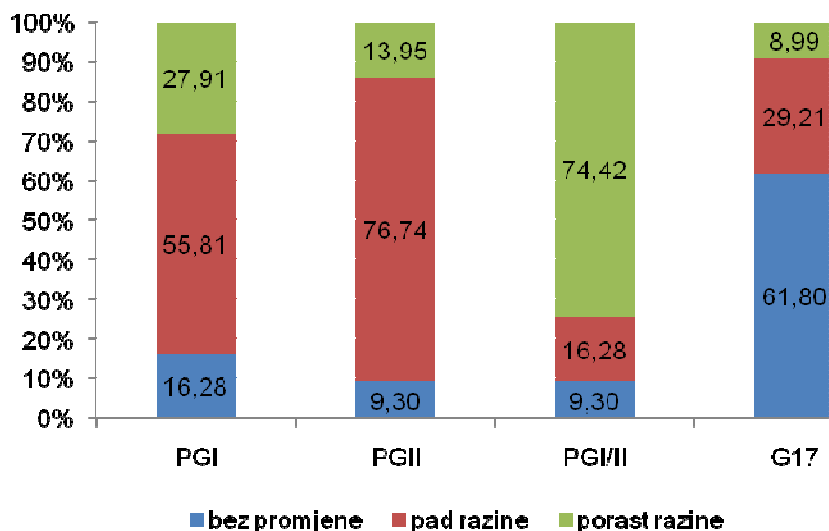
Tabela 9. Razina enzima PGI, PGII, PGI/II i G17 u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije.

enzim	median	raspon	IQR
PGI (n=43)	105	25 - 250	80 - 162
PGII (n=43)	11	1 - 42	6 - 15
PGI/II (n=43)	10	2 - 62	7.25 – 14.5
G17 (n=89)	2	2 - 34	2 - 2

Usporedbom nalaza razine enzima PGI, PGII, G17 i omjera PGI/II u 5- oj godini i početnom nalazu utvrđena je varijabla - **dinamika razine enzima** u petogodišnjem razdoblju. Na osnovu rezultata definirane su podskupine bolesnika:

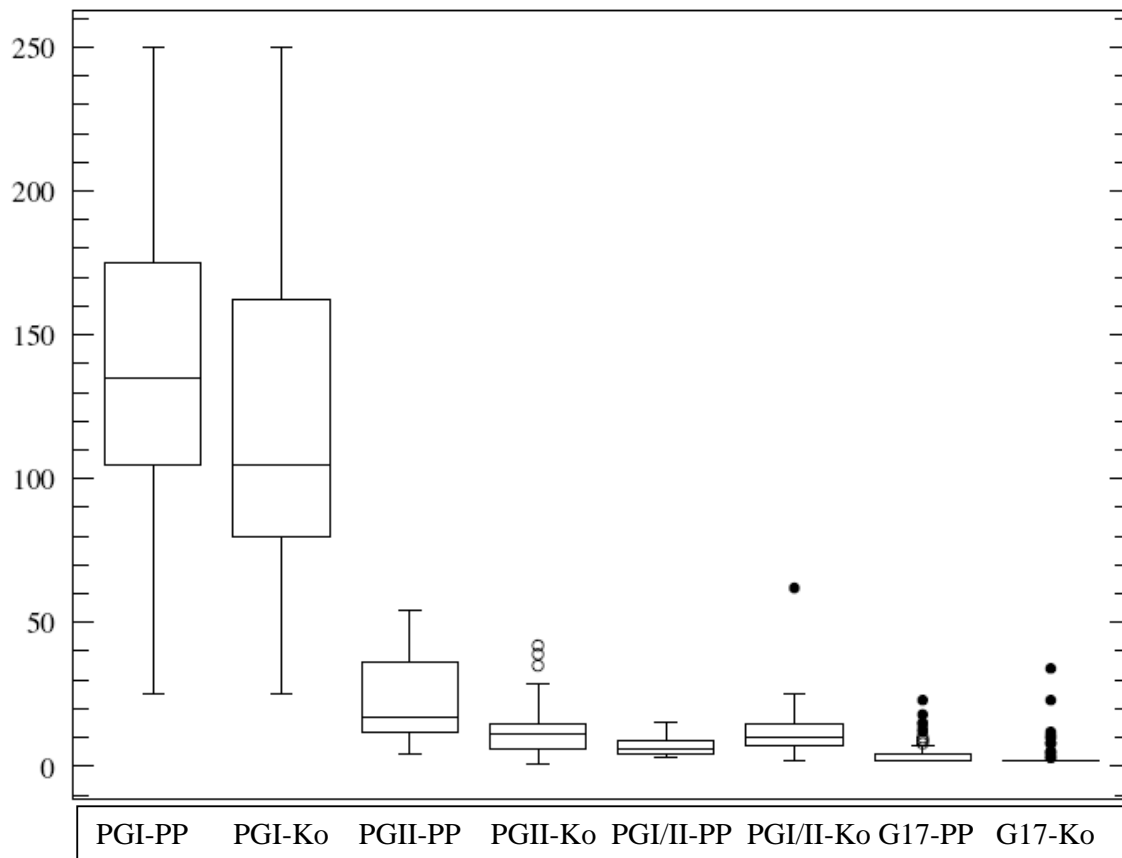
1. razlika razine enzima jednaka nuli - bez promjene razine,
2. razlika razine enzima manja od nule - pad razine,
3. razlika razine enzima veća od nule - porast razine.

Za enzim PGI u 7 bolesnika nije utvrđena promjena razine, u 24 je došlo do pada, a 12 porasta razine enzima. Razina enzima PGII bez promjene je u 4 bolesnika, u padu je kod 33, a porastu 6. Omjer razine enzima PGI/II bez promjene je u 4 bolesnika, u padu 7, a porastu 32. Istovjetno za enzim G17 razina je bez promjene u 55 bolesnika, u padu 26, a porastu 8. Slika 17 prikazuje dinamiku razine enzima (bez promjene/pad razine/porast razine) PGI, PGII, G17 i omjera PGI/II u petogodišnjem razdoblju nakon provedene eradikacijske terapije.



Slika 17. Dinamika (bez promjene, pad razine ili porast razine) razine enzima PGI, PGII, omjera PGI/II i G17 u 5-godišnjem razdoblju.

Za razine enzima PGI, PGII i G17 dominantno je prisutan pad, a omjer razina enzima PGI/II porast razine u petogodišnjem razdoblju. Stoga je u promatranom razdoblju uočen je pad mediana vrijednosti razina enzima PGI i PGII i porast mediana omjera razine enzima PGI/II. Median razine enzima G17 u promatranom razdoblju je bez promjene. Slika 18 prikazuje vrijednosti razine enzima svih bolesnika u početnom nalazu i nalazu u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije.



Slika 18. Razina enzima u početnom nalazu (PP) i nalazu u 5-oj godini (Ko) nakon provedene eradikacijske terapije (median, raspon minimalne i maksimalne vrijednosti te interkvartilni raspon).

6.4 Procjena statističke značajnosti dinamičnosti stupnjeva i stadija patohistoloških parametara te razine enzima u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije

Analiza dinamičnost stupnjeva i stadija patohistoloških parametara i razine enzima učinjena je usporedbom nalaza u početnom pregledu i 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije.

U petogodišnjem intervalu, za oba patohistološka parametra (atrofični gastritis i intestinalnu metaplaziju) analiziranih po Sydney sistemu (na obje lokalizacije u želucu) te analizom prisutnih stadija navedenih parametara po OLGA sistemu, utvrđena je statistički značajna dinamičnost u prisutnim stupnjevima i stadijima navedenih parametara (Tabela 10).

Također, analizom promjene razine enzima u petogodišnjem intervalu dokazana je statistička značajnost promjena u razini svih testiranih enzima (PGI, PGII, omjera PGI/II i G17) (Tabela 10).

Tabela 10. Dinamičnost stupnjeva i stadija patohistoloških parametara (atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije) te razine enzima (PGI, PGII, PGI/II, G17) u petogodišnjem razdoblju nakon provedene eradikacijske terapije.

parametar	Wilcoxon Signed Ranks			
	rank	n	p	z
ATR OLGA	izjednačeno	93	<0.001	-5.514
	negativni	85		
	pozitivni	8		
IM OLGA	izjednačeno	82	<0.001	-6.23
	negativni	85		
	pozitivni	19		
ATR korpus	izjednačeno	133	<0.001	-4.405
	negativni	49		
	pozitivni	4		
ATR antrum	izjednačeno	123	<0.001	-5.674
	negativni	59		
	pozitivni	4		
IM korpus	izjednačeno	140	<0.001	-7.45
	negativni	38		
	pozitivni	8		
IM antrum	izjednačeno	91	<0.001	-6.735
	negativni	74		
	pozitivni	21		
PGI	izjednačeno	7	0.008	-2.648
	negativni	24		
	pozitivni	12		
PGII	izjednačeno	4	<0.001	-4.642
	negativni	33		
	pozitivni	6		
PGI/II	izjednačeno	4	<0.001	-4.627
	negativni	7		
	pozitivni	32		
G17	izjednačeno	55	0.020	-2.319
	negativni	26		
	pozitivni	8		

6.5 Procjena dinamičnosti patohistoloških parametara odvojeno za bolesnike s prisutnim ili odsutnim premalignim promjenama u početnom nalazu

Radi procjene uloge prisutnosti početnog nalaza premalignih promjena na dinamičnost stupnjeva patohistoloških parametara bolesnici su u daljoj analizi podijeljeni na one s pozitivnim i negativnim bazičnim nalazom za prisutnost ispitivanog patohistološkog parametra (atrofičnog gastritisa ili intestinalne metaplazije). Analiza je provedena odvojeno za antrum i korpus želuca prema Sydney sistemu i prema OLGA sistemu.

Statistički značajan nalaz dinamičnosti navedenih promjena utvrđen je za sve parametre osim kod bolesnika s negativnim nalazom prisutnosti atrofičnog gastritisa antruma i korpusa u početnom nalazu te atrofičnog gastritisa prema OLGA sistemu (Tabela 11).

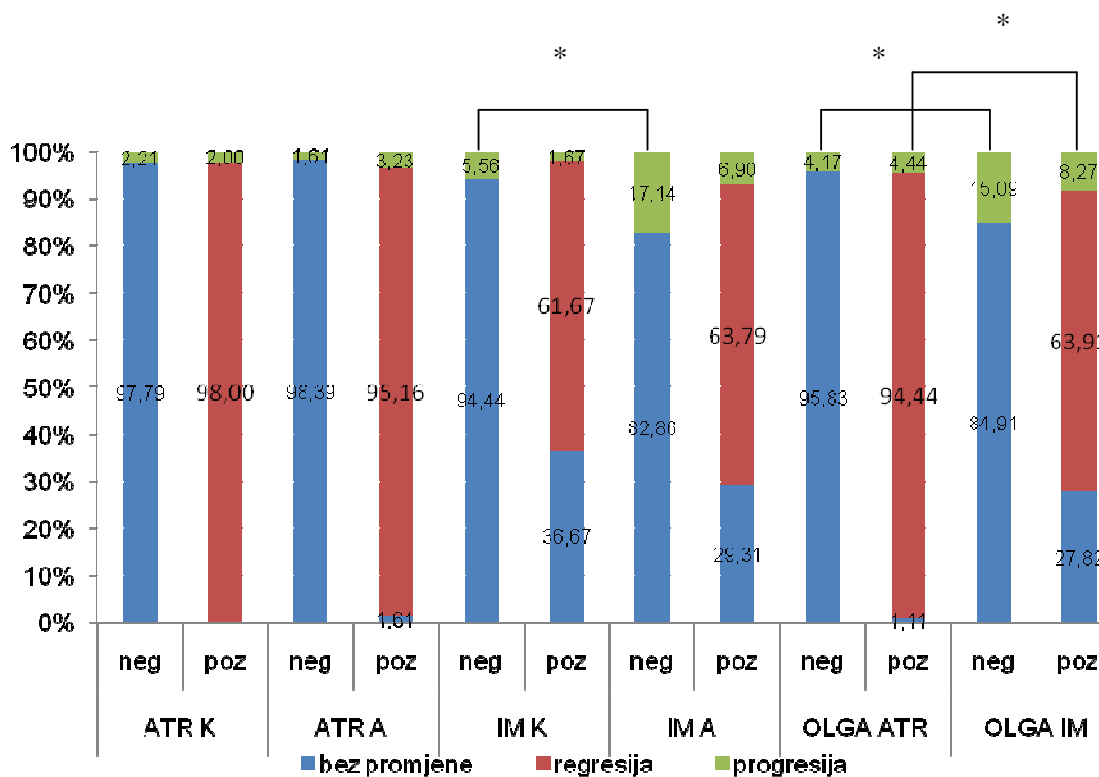
Tabela 11. Dinamičnost patohistoloških parametara u petogodišnjem intervalu nakon provedene eradikacijske terapije ovisno o prisutnosti testiranog histološkog parametra u početnom nalazu.

		Početni nalaz negativan			Početni nalaz pozitivan		
Parametar		Rank	z	p	Rank	z	p
ATR K	izjednačeni	133	1.603	0.250	0	-6.052	<0.001
	negativni	0			49		
	pozitivni	3			1		
ATR A	izjednačeni	122	1.341	0.500	1	-6.568	<0.001
	negativni	0			59		
	pozitivni	2			2		
IM K	izjednačeni	119	2.366	0.015	22	-5.118	<0.001
	negativni	0			37		
	pozitivni	7			1		
IM A	izjednačeni	58	3.059	<0.001	34	-6.814	<0.001
	negativni	0			74		
	pozitivni	12			8		
OLGA ATRA	izjednačeni	92	1.825	0.125	1	-7.873	<0.001
	negativni	0			85		
	pozitivni	4			4		
OLGA IM	izjednačeni	45	2.521	0.007	37	-7.458	<0.001
	negativni	0			85		
	pozitivni	8			11		

Kod bolesnika negativnih u početnom nalazu značajan je udio onih bez dinamike patohistološkog parametra (82.86 – 94.44%). Udio bolesnika s negativnim početnim nalazom kod kojih se u petogodišnjem razdoblju pojavila premaligna promjena (progresija nalaza) je najveći je kod onih s intestinalnom metaplazijom u

antrumu (17.40%), a nešto manji za intestinalnu metaplaziju u korpusu (5.56%), a prema OLGA sistemu 15.09%. Kod bolesnika s atrofičnim gastritisom udio bolesnika s progresijom nalaza (pojavom atrofičnog gastritisa kod početnom nalazu negativnih bolesnika) iznosi 2.21 % za korpus želuca i 1.61% za antrum, a prema OLGA sistemu 4.17%. Razlika između udjela bolesnika s različitim ishodom dinamčnosti (bez dinamike/progresija) intestinalne metaplazije u antrumu i korpusu je statistički značajna (X^2 6.009, df 1, p=0.009). Također je statistički značajna i razlika između atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije po OLGA sistemu (X^2 5.506, df 1, p=0.019) (Slika19).

Kod bolesnika s pozitivnim početnim nalazom za sve patohistološke parametre dominira udio bolesnika s regresijom patohistološkog nalaza (61.67 – 98%). Pri tome je regresivna dinamika promjena stupnja izraženija kod atrofičnog gastritisa nego intestinalne metaplazije. Udio bolesnika s progresijom stupnja patohistološkog parametra iznosi između je 1.67 i 6.90%. Prema OLGA sistemu za atrofični gastritis iznosi 4.44%, a intestinalnu metaplaziju 8.27%. Razlike između udjela bolesnika s različitim tipovima dinamike stupnja patohistološkog parametra u antrumu i korpusu nisu statistički značajne niti za atrofični gastritis niti intestinalnu metaplaziju, ali se statistički značajano razlikuju između atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije prema OLGA sistemu(Slika 19).



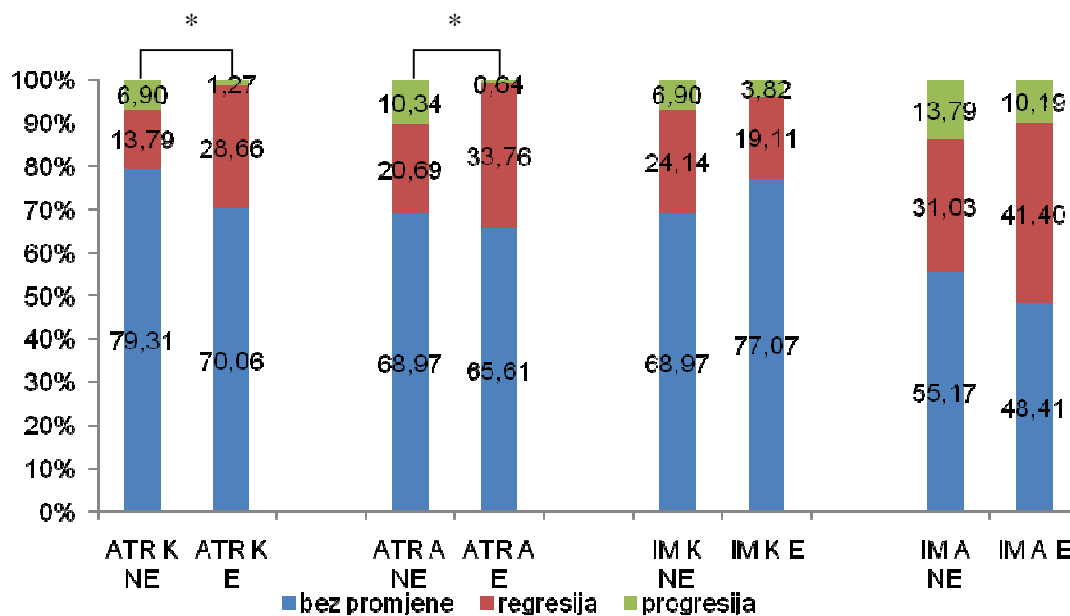
Slika 19. Dinamika (bez promjene, regresija ili progresija) stupnja patohistoloških parametara - atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) antruma (A) i korpusa (K) želuca prema prisutnosti patohistološkog parametra u početnom nalazu.

6.6 Uloga uspjeha eradikacijske terapije u dinamici patohistološkog nalaza u 5-godišnjem razdoblju

Dinamičnost stupnjeva i stadija patohistoloških parametara dodatno je analizirana odvojeno za bolesnike koji su uspješno eradikirani i neuspješno eradikirani (ne- eradikirani).

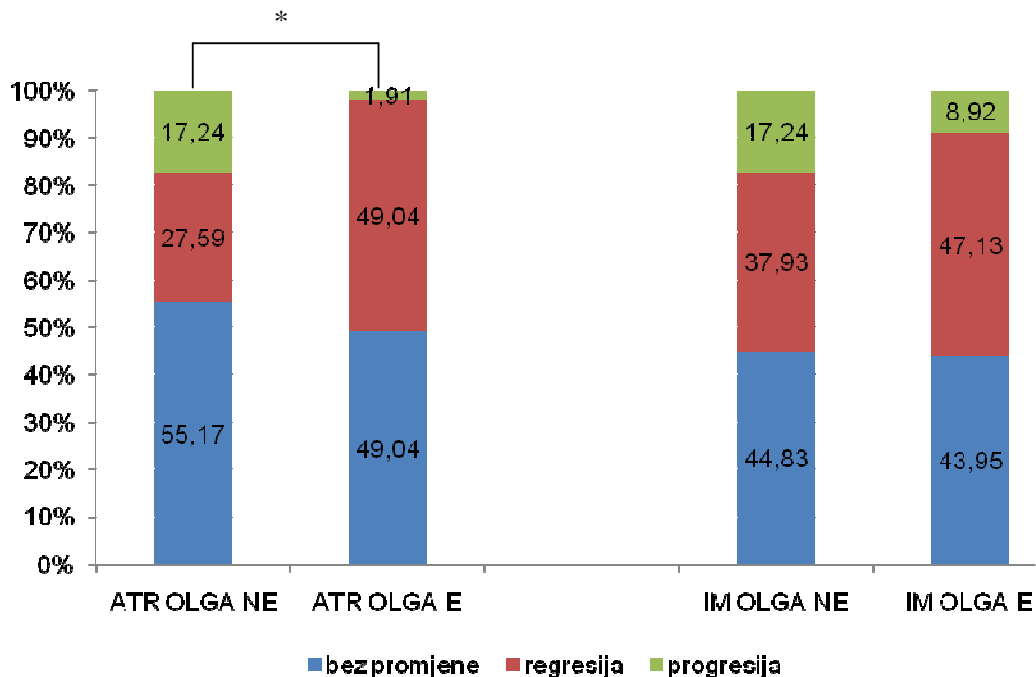
Na Slici 20 prikazana je dinamika rezultata patohistološke analize u 5-godišnjem intervalu odvojeno za eradikirane i neeradikirane bolesnike analizom prema Sydney sistemu. Kod svih testiranih histoloških parametara, neovisno o uspjehu eradikacijske terapije dominiraju udijeli bolesnika s regresijom stupnjeva patohistoloških parametara. Ipak, postotak bolesnika s regresijom patohistoloških parametara je veći kod uspješno eradikiranih nego ne- eradikiranih.

Usporedbom eradikiranih i ne- eradikiranih bolesnika, statistička značajnost u razlikama udjela bolesnika prema tipovima promjene stupnjeva gastritisa (bez promjene/regresija/progresija) dobivena je za patohistološke parametre: atrofičnog gastritisa u korpusu (X^2 5.945, df 2, $p=0.051$) i atrofičnog gastritisa u antrumu (X^2 12.086, df 2, $p=0.002$). Za intestinalnu metaplaziju na obje anatomske lokalizacije (antrum X^2 1.183, df 2, $p=0.553$ i korpus X^2 1.061, df 2, $p=0.588$) nije utvrđena statistička značajnost.



Slika 20. Dinamika patohistoloških parametara u 5-godišnjem intervalu po Sydney sistemu (ATR- atrofični gastritis, IM- intestinalna metaplazija, A- antrum, K- korpus, E- eradikirani, NE- ne- eradikirani).

Na Slici 21, odvojeno za eradikirane i neeradikirane bolesnike, prikazana je dinamika rezultata patohistološke analize u 5-godišnjem intervalu prema OLGA sistemu. Kod oba patohistološka parametra dominira udio bolesnika s regresivnom dinamikom prisutnog stadija. Kod uspješno eradikiranih bolesnika, taj je udio izraženiji, a statistička značajnost usporedno s ne- eradikiranim bolesnicima dokazana je za atrofični gastritis (X^2 16.026, df 2, $p < 0.001$) ali ne i intestinalnu metaplaziju (X^2 2.118 df 2, $p = 0.347$).



Slika 21. Dinamika patohistoloških parametara u 5-godišnjem intervalu po OLGA sistemu (ATR- atrofični gastritis, IM- intestinalna metaplazija, NE- ne- eradikirani, E- eradikirani).

6.7 Uloga uspjeha eradikacijske terapije u dinamici razine enzima u 5-godišnjem razdoblju

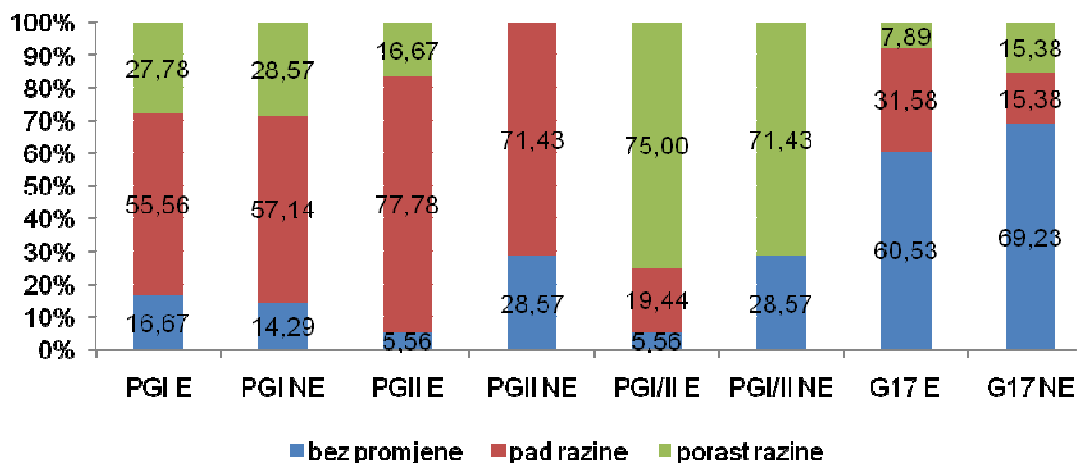
Analizom dinamičnost razine enzima (PGI, PGII, PGI/II i G 17) odvojeno za uspješno eradikirane i neeradikirane bolesnike dobiveni su slijedeći rezultati.

I kod uspješno eradikiranih i ne- eradikiranih bolesnika u 5-oj godini uočen je pad mediana vrijednosti enzima PGI i PGII, porast mediana omjera PGI/II, a median enzima G17 je bez dinamike (Tabela 12).

Tabela 12. Razina enzima u početnom nalazu i nalazu u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije kod uspješno eradikiranih i ne – eradikiranih bolesnika.

	enzim	prvi pregled			kontrola		
		median	raspon	interkvartilni raspon (IQR)	median	raspon	interkvartilni raspon (IQR)
eradikirani	PGI (n=43)	130	25 - 250	76.25 - 173.80	105.50	25 - 250	80 - 132
	PGII (n=43)	17	4 - 54	11.25 – 34.50	10.50	4 - 42	6.25 – 13.50
	PGI/II (n=43)	6.25	3.13 – 15.14	4.37 – 8.75	10.21	2.08 – 18.33	7.31 – 14.46
	G17 (n=89)	2	2 - 23	2 - 4	2.00	2- 34	2 - 2
ne eradikirani	PGI (n=43)	160	112 - 250	125 - 250	87.00	62 - 250	87 - 187
	PGII (n=43)	22	13 - 52	17 - 45	14.00	1 - 35	5 - 22
	PGI/II (n=43)	6.75	2.84 – 9.41	4.81 – 8.62	9.53	6.12 - 62	7.14 – 17.40
	G17 (n=89)	2	2 - 12	2 – 5.5	2.00	2 - 12	2 – 6.5

Na Slici 22, odvojeno za uspješno eradikirane i ne – eradikirane bolesnike prikazana je dinamičnost (bez dinamike/pad/ porast) razine enzima (PGI, PGII, omjera PGI/II i G17). Usporedbom udjela bolesnika s različitim ishodima dinamike enzima kod ne- eradikiranih i eradikiranih bolesnika statistička značajnost nije dokazana za niti jedan testirani enzim (PGI X^2 0.024 df 2 p=0.998; PGII X^2 4.534 df 2 p=0.104; G17 X^2 1.825 df 2 p=0.401). Granična vrijednost utvrđena je za omjer enzima PGI/II (X^2 4.708,df 2, p=0.095).



Slika 22. Dinamika enzima (PGI, PGII, G17 i omjera PGI/II) kod eradikiranih i ne-eradikiranih bolesnika u 5-godišnjem razdoblju.

6.8 Procjena statističke značajnosti dinamičnosti stupnjeva i stadija patohistoloških parametara te razine enzima u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije za eradikirane i ne – eradikirane bolesnike

Radi procjene dinamičnost stupnjeva i stadija patohistoloških parametara i razine enzima učinjena je usporedbom nalaza u početnom pregledu i 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije. Analiza je učinjena odvojeno za uspješno eradikirane i neeradikirane bolesnike.

Kod uspješno eradikiranih bolesnika za oba patohistološka parametra (atrofični gastritis i intestinalnu metaplaziju) analiziranih po Sydney sistemu (na obje lokalizacije u želucu) te analizom prisutnih stadija navedenih parametara po OLGA

sistemu, utvrđena je statistički značajna dinamičnost u prisutnim stupnjevima i stadijima navedenih parametara (Tabela 13). Statistički značajna dinamičnost nije dokazana za ne – eradicirane bolesnike.

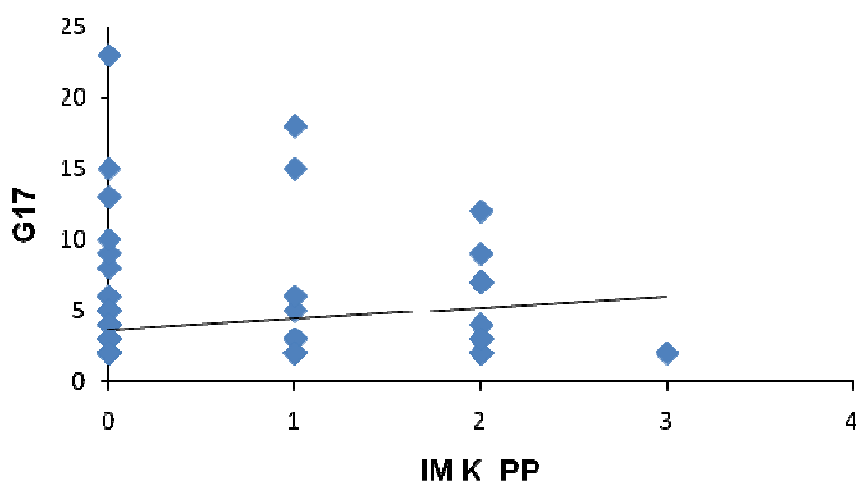
Analizom dinamičnosti razine enzima u petogodišnjem intervalu dokazana je statistička značajnost promjena u razini enzima PGII i omjera PGI/II (Tabela 13).

Tabela 13. Dinamičnost patohistološkog nalaza i razine enzima u petogodišnjem razdoblju nakon provedene eradikacijske terapije ovisno o uspjehu terapije.

		ne- eradikirani	p	z	eradikirani	p	z
ATR OLGA	izjednačeno	16	0.281	-1.079	77	<0.001	-7.500
	negativni	8			77		
	pozitivni	5			3		
IM OLGA	izjednačeno	13	0.078	-1.762	69	<0.001	-6.521
	negativni	11			74		
	pozitivni	5			14		
ATR korpus	izjednačeno	23	0.829	-0.216	110	<0.001	-5.852
	negativni	4			45		
	pozitivni	2			2		
ATR antrum	izjednačeno	20	0.357	-0.921	103	<0.001	-6.214
	negativni	6			53		
	pozitivni	3			1		
IM korpus	izjednačeno	19	0.084	-1.727	121	<0.001	-4.088
	negativni	8			30		
	pozitivni	2			6		
IM antrum	izjednačeno	16	0.166	-1.384	75	<0.001	-5.525
	negativni	9			65		
	pozitivni	4			17		
PGI	izjednačeno	1	0.116	-3.572	6	0.026	-2.222
	negativni	4			20		
	pozitivni	2			10		
PGII	izjednačeno	2	0,043	-2.023	2	<0.001	-4.156
	negativni	5			28		
	pozitivni	0			6		
PGI/II	izjednačeno	2	0.043	-2.023	2	<0.001	-4.249
	negativni	0			7		
	pozitivni	5			27		
G17	izjednačeno	9	0.581	-0.552	46	0.010	-2.563
	negativni	2			24		
	pozitivni	2			6		

6.9 Korelacija nalaza razine enzima i stupnjeva patohistološkog nalaza atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije

Usporedbom korelacije rezultata razine enzima i pojedinih stupnjeva patohistoloških parametara u početnom i kontrolnom pregledu dobiveni su slijedeći rezultati. Za enzim G17 utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija razine enzima i stupnjeva patohistološkog parametra **intestinalne metaplazije u korpusu** za bazični nalaz (Sperman rho $r=0.248$, $p=0.019$). (Slika 23).



Slika 23. Korelacija razine enzima G17 i stupnja patohistološkog parametra intestinalne metaplazije u korpusu (IM K) kod prvog pregleda (PP).

Graničan nalaz ($0.050 \leq p \leq 0.100$) korelacije nalaza enzima i pojedinih stupnjeva gastritisa utvrđen je za:

1. enzim PGI i

1.1. atrofični gastritis korpusa u početnom nalazu (Sperman rho $r=-0.261$; $p=0.091$)

- 1.2. intestinalnu metaplaziju korpusa u kontrolnom nalazu (Sperman rho $r=-0.268$; $p=0.083$)
2. enzim PG II i
 - 2.1. atrofični gastritis korpusa u prvom pregledu (Sperman rho $r=-0.255$; $p=0.099$)
 - 2.2. intestinalnu metaplaziju korpusa u kontrolnom pregledu (Sperman rho $r=-0.264$; $p=0.087$)
3. omjer enzima PGI/II i
 - 3.1. atrofiju prema OLGA sistemu u kontrolnom pregledu (Sperman rho $r=0.260$; $p=0.093$)
 - 3.2. atrofični gastritis antruma u kontrolnom pregledu (Sperman rho $r=0.273$; $p=0.076$)
4. enzim G17 i
 - 4.1. atrofični gastritis korpusa u prvom pregledu (Sperman rho $r=0.205$; $p=0.053$)
 - 4.2. atrofiju prema OLGA sistemu u prvom pregledu (Sperman rho $r=0.184$; $p=0.085$).

Za ostale testirane kombinacije enzima i patohistoloških parametara nije utvrđena statistički značajna korelacija nalaza.

U Tabeli 14 prikazani su rezultati testa korelacije razine enzima PGI s nalazom pojedinih stupnjeva patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije u antrumu i korpusu želuca. Rezultati su prikazani odvojeno za početni pregled i nalaz kontrole (u 5- oj godini). U Tabeli 15 istovjetno je prikazano za enzim PGII, u Tabeli 16 za omjer razine enzima PGI/II, a Tabeli 17 enzim G17.

Tabela 14. Korelacija rezultata razine enzima **PGI** u početnom nalazu i kontroli s nalazom histoloških parametara (atrofični gastritis – ATR i intestinalna metaplazija – IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca.

Histološki parametar	Sperman rho			
	Prvi pregled		Kontrola u 5-oj godini	
	r	p	r	p
ATR OLGA	-0.182	0.243	0.059	0.709
IM OLGA	-0.191	0.220	-0.144	0.356
ATR K	-0.261	0.091	0.189	0.224
ATR A	0.018	0.911	-0.081	0.604
IM K	-0.112	0.476	-0.268	0.083
IM A	-0.125	0.424	0.064	0.682

Tabela 15. Korelacija rezultata razine enzima **PGII** u početnom nalazu i kontroli s nalazom histoloških parametara (atrofični gastritis – ATR i intestinalna metaplazija – IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca.

Histološki parametar	Sperman rho			
	Prvi pregled		Kontrola u 5-oj godini	
	r	p	r	p
ATR OLGA	-0.212	0.172	-0.059	0.707
IM OLGA	-0.241	0.119	-0.207	0.183
ATR K	-0.255	0.099	0.139	0.375
ATR A	-0.036	0.820	-0.182	0.242
IM K	-0.089	0.569	-0.264	0.087
IM A	-0.196	0.207	-0.026	0.867

Tabela 16. Korelacija rezultata omjera razine enzima **PGI/II** u početnom nalazu i kontroli s nalazom histoloških parametara (atrofični gastritis – ATR i intestinalna metaplazija – IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca.

	Sperman rho			
	Prvi pregled		Kontrola u 5-oj godini	
	r	p	r	p
ATR OLGA	0.091	0.560	0.260	0.093
IM OLGA	0.135	0.387	0.183	0.241
ATR K	-0.006	0.971	0.058	0.712
ATR A	0.173	0.267	0.273	0.076
IM K	0.010	0.947	0.122	0.435
IM A	0.131	0.403	0.136	0.383

Tabela 17. Korelacija rezultata razine enzima **G17** u početnom nalazu i kontroli s nalazom histoloških parametara (atrofični gastritis – ATR i intestinalna metaplazija – IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca.

Histološki parametar	Sperman rho			
	Prvi pregled		Kontrola u 5-oj godini	
	r	p	r	p
ATR OLGA	0.184	0.085	0.007	0.951
IM OLGA	0.136	0.203	0.059	0.585
ATR K	0.205	0.053	-0.071	0.511
ATR A	0.083	0.442	0.059	0.586
IM K	0.248	0.019	0.157	0.141
IM A	0.043	0.691	-0.042	0.699

6.10 Dinamika stupnjeva i stadija patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije prema nalazu prisutnosti čimbenika virulencije *H. pylori*

Analizom dinamičnosti patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije prema nalazu prisutnosti čimbenika virulencije *H. pylori* dobiveni su sljedeći rezultati.

U **p120 (CagA)** pozitivnih ispitanika za sve ispitivane histološke parametre uočena je statistički značajna promjena stupnja ili stadija. Kod p120 (CagA) negativnih bolesnika dinamičnost je statistički značajna kod bolesnika s atrofičnim gastritisom analiziranim prema OLGA sistemu (Tabela 18). Međutim, veličina grupe p120 (CagA) negativnih bolesnika je mala (n=7) te je stoga teško pouzdano primjenom statističkih metoda procijeniti dinamičnost te grupe. Usporedbom udjela bolesnika s promjenama (bez promjene/regresija/progresija) stupnja ili stadija histoloških parametara u p120 (CagA) pozitivnih i negativnih bolesnika nije utvrđena statistička značajnost za niti jedan histološki parametar.

Tabela 18. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p120 (CagA) pozitivnih i negativnih bolesnika.

	p120 (CagA)	rankovi			Wilcoxon rank sum test		Mann Whitney test	
		izjednačeni	negativni	pozitivni	Z	p	U	p
ATR OLGA	poz	22	64	4	-6.6	<0.001	218.0	0.084
	neg	0	6	1	-2.0	0.046		
IM OLGA	poz	47	33	10	-3.7	<0.001	266.0	0.445
	neg	5	1	1	-0.4	1.000		
ATR K	poz	52	37	1	-4.9	<0.001	206.5	0.081
	neg	2	4	1	-1.6	0.125		
ATR A	poz	42	45	3	-4.7	<0.001	265.5	0.432
	neg	2	5	0	-2.0	0.063		
IM K	poz	73	12	5	-2.0	0.039	306.5	0.861
	neg	6	0	0	1.0	1.000		
IM A	poz	53	27	10	-4.8	0.005	284.0	0.620
	neg	5	1	1	-0.4	1.000		

Analizom rezultata dinamike stupnjeva ili stadija histoloških parametara kod bolesnika testiranih na antitijela za **p95 (VacA)** uočena je statistički značajna dinamičnost za sve serološki pozitivne i negativne bolesnike osim u slučaju negativnih bolesnika za intestinalnu metaplaziju korpusa ($p=0.843$). Nalaz testiranja dinamičnosti za serološki pozitivne bolesnike i intestinalnu metaplaziju antruma je graničan ($p=0.070$). Usporedbom udjela bolesnika s različitim tipovima promjena (bez promjene/regresija/progresija) stupnja ili stadija histoloških parametara, između p95 (VacA) pozitivnih i negativnih bolesnika nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 19).

Tabela 19. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p95 (VacA) pozitivnih i negativnih bolesnika.

	p95 (VacA)	rankovi			Wilcoxon rank sum test		Mann Whitney test	
		izjednačeni	negativni	pozitivni	Z	p	U	p
ATR OLGA	poz	14	42	3	-5.3	<0.001	1091.0	0.777
	neg	8	28	2	-4.5	<0.001		
IM OLGA	poz	33	20	6	-2.9	0.003	1046.5	0.539
	neg	19	14	5	-2.3	0.020		
ATR K	poz	36	23	0	-4.2	<0.001	945.0	0.134
	neg	18	18	2	-3.0	0.001		
ATR A	poz	27	29	3	-4.2	<0.001	110.0	0.866
	neg	17	21	0	-4.0	<0.001		
IM K	poz	47	10	2	-2.1	0.034	1088.0	0.718
	neg	32	2	4	0.3	0.843		
IM A	poz	38	15	6	-1.8	0.070	990.5	0.269
	neg	20	13	5	-2.2	0.026		

Analizom rezultata dinamičnosti stupnjeva ili stadija histoloških parametara kod **p30 (OMP)** serološki negativnih i pozitivnih bolesnika uočena je statistički značajna dinamičnost u obje skupine bolesnika osim: u slučaju intestinalne metaplazije korpusa ($p=0.300$; $p=0.128$) kod obje skupine bolesnika, serološki pozitivnih bolesnika za intestinalnu metaplaziju antruma ($p=0.276$) i serološki negativnih bolesnika kod atrofičnog gastritisa prema OLGA sistemu ($p=0.070$). Usporedbom udjela bolesnika s različitim tipovima promjena (bez promjene/regresija/progresija) stupnja ili stadija histoloških parametara između p30 (OMP) pozitivnih i negativnih bolesnika nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 20).

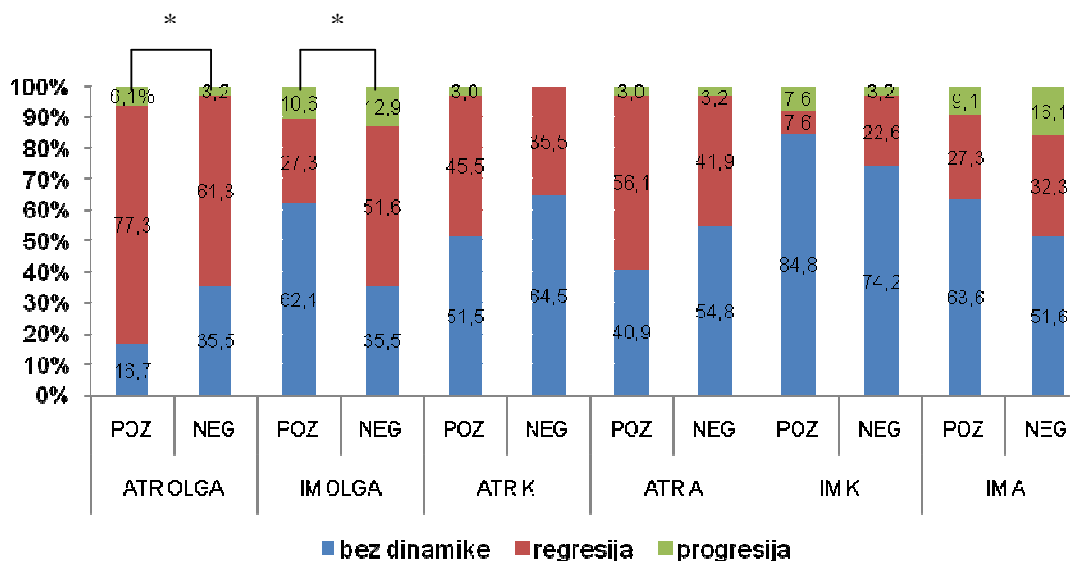
Tabela 20. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p30 (OMP) pozitivnih i negativnih bolesnika.

	p30 (OMP)	rankovi			Wilcoxon rank sum test		Mann Whitney test	
		izjednačeni	negativni	pozitivni	Z	p	U	p
ATR OLGA	poz	8	32	2	-4.6	<0.001	1091.0	0.552
	neg	14	38	3	-1.8	0.070		
IM OLGA	poz	24	13	5	-2.0	0.043	1096.0	0.634
	neg	28	21	6	-3.1	0.002		
ATR K	poz	25	16	1	-3.4	<0.001	1081.0	0.534
	neg	29	25	1	-3.9	<0.001		
ATR A	poz	17	24	1	-3.9	<0.001	1066.0	0.463
	neg	27	26	2	-4.3	<0.001		
IM K	poz	33	6	3	-1.0	0.300	1096.5	0.529
	neg	46	6	3	-1.6	0.128		
IM A	poz	27	10	5	-1.1	0.276	1078.5	0.523
	neg	31	18	6	-2.7	0.007		

Analizom rezultata dinamičnosti stupnjeva ili stadija histoloških parametara odvojeno za **p29 (UreA)** serološki pozitivne i negativne bolesnike, utvrđena je statistička značajnost rezultata za sve pozitivne i negativne bolesnike osim u slučaju: serološki pozitivnih bolesnika za intestinalnu metaplaziju korpusa ($p=0.845$) te serološki negativnih bolesnika za intestinalnu metaplaziju antruma ($p=0.168$) (Tabela 21). Usporedbom udjela bolesnika s različitim tipovima promjena (bez promjene/regresija/progresija) stupnja ili stadija histoloških parametara u p29 (UreA) pozitivnih i negativnih bolesnika utvrđena je statistička značajnost za histološke parametre atrofičnog gastritisa ($p=0.043$) i intestinalnu metaplaziju prema OLGA sistemu ($p=0.029$) (Slika 24). Kod serološki pozitivnih bolesnika s atrofičnim gastritisom dominira udio bolesnika s regresijom stadija (77.30%), a u negativnih su značajno zastupljeni bolesnici s regresijom stadija (61.30%) i bez dinamike stadija (35.50%). Kod serološki pozitivnih bolesnika s intestinalnom metaplazijom dominira udio bolesnika bez dinamike stadija (62.10%), a u serološki negativnih s regresijom stadija (51.60%) prema OLGA sistemu.

Tabela 21. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p29 (UreA) pozitivnih i negativnih bolesnika.

	p29 (UreA)	rankovi			Wilcoxon rank sum test		Mann Whitney test	
		izjednačeni	negativni	pozitivni	Z	p	U	p
ATR OLGA	poz	11	51	4	-5.9	<0.001	818.0	0.043
	neg	11	19	1	-3.8	<0.001		
IM OLGA	poz	41	18	7	-2.7	0.007	770.5	0.029
	neg	11	16	4	-2.5	0.010		
ATR K	poz	34	30	2	-4.3	<0.001	879.0	0.199
	neg	20	11	0	-2.9	<0.001		
ATR A	poz	27	37	2	-4.9	<0.001	886.0	0.227
	neg	17	13	1	-3.0	<0.001		
IM K	poz	56	5	5	-0.3	0.845	929.0	0.282
	neg	23	7	1	-2.2	0.023		
IM A	poz	42	18	6	-2.6	0.010	885.0	0.221
	neg	16	10	5	-1.4	0.168		



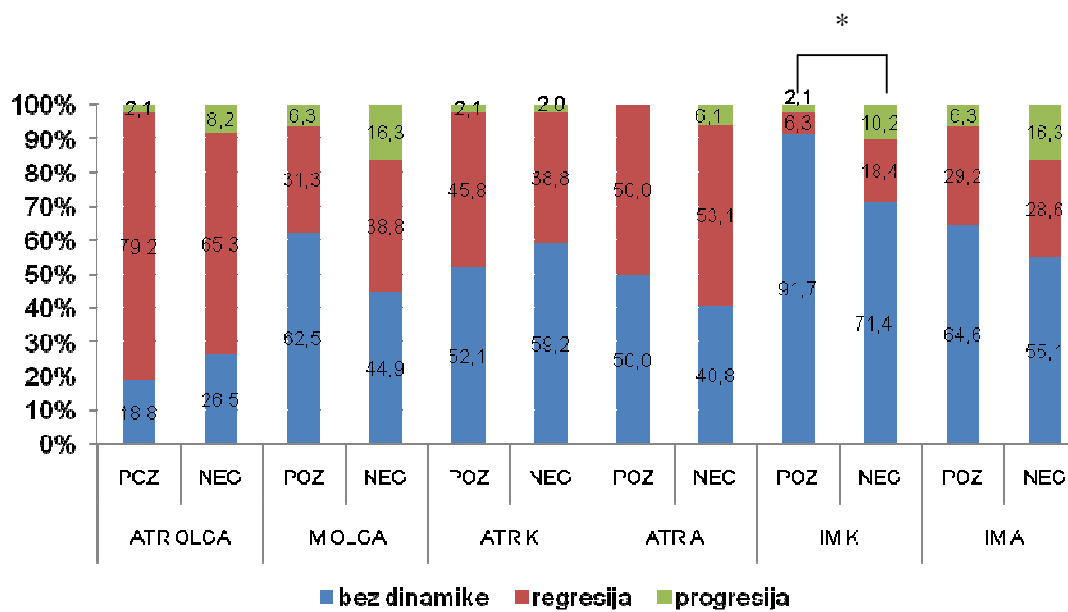
Slika 24. Dinamičnost stupnja i stadija histoloških parametra (atrofičnog gastritisa - ATR i intestinalne metaplazije - IM) antruma (A) i korpusa (K) želuca kod **p29 (UreA)** serološki pozitivnih i negativnih bolesnika.

Analizom dinamičnosti stupnjeva ili stadija histoloških parametara za **p26** serološki pozitivne i negativne bolesnike utvrđena je statistička značajnost za obje skupne bolesnika osim: u slučaju serološki pozitivnih bolesnika za intestinalnu metaplaziju korpusa ($p=0.375$) te serološki negativnih bolesnika za intestinalnu metaplaziju antruma ($p= 0.248$). Za nalaz serološki negativnih bolesnika i intestinalnu metaplaziju korpusa nalaz je graničan ($p=0.078$) (Tabela 22). Usporedbom udjela bolesnika s različitim tipovima promjenama (bez promjene/regresija/progresija) stupnja ili stadija histoloških parametara između p26 serološki pozitivnih i negativnih bolesnika utvrđena je statistička značajnost za histološki parametar intestinalnu metaplaziju u korpusu ($p=0.010$) te graničan nalaz za intestinalnu metaplaziju po OLGA sistemu ($p=0.055$) (Slika 25). U serološki pozitivnih bolesnika dominira udio bolesnika bez promjene stupnja intestinalne metaplazije u korpusu (91.70%), a

serološki negativnih značajan je udio bolesnika s regresijom stupnja (18.40%) i progresijom stupnja (10.20%). U serološki pozitivnih bolesnika za stadij intestinalne metaplazije po OLGA sistemu dominira udio bolesnika bez dinamike stadija (62.50%), a kod serološki negativnih gotovo su izjednačeni udjeli bolesnika bez dinamike (44.90%) te s regresijom stadija (38.80%) uz značajan udjel bolesnika s progresijom stadija intestinalne metaplazije (16.30%).

Tabela 22. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antruma i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p26 pozitivnih i negativnih bolesnika.

	p26	rankovi			Wilcoxon rank sum test		Mann Whitney test	
		izjednačeni	negativni	pozitivni	Z	p	U	p
ATR OLGA	poz	9	38	1	-5.4	<0.001	144.5	0.711
	neg	13	32	4	-4.4	<0.001		
IM OLGA	poz	30	15	3	-2.8	0.004	937.5	0.055
	neg	22	19	8	-2.4	0.016		
ATR K	poz	25	22	1	-4.1	<0.001	1094.0	0.495
	neg	29	19	1	-3.2	<0.001		
ATR A	poz	24	24	0	-4.3	<0.001	1032.0	0.236
	neg	20	26	3	-3.9	<0.001		
IM K	poz	44	3	1	-0.9	0.375	935.0	0.010
	neg	35	9	5	-1.8	0.078		
IM A	poz	31	14	3	-2.7	0.003	1029.5	0.266
	neg	27	14	8	-1.1	0.284		



Slika 25. Primjena stupnja /stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR i intestinalna metaplazija - IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca kod p26 serološki pozitivnih i negativnih bolesnika.

Analizom dinamičnosti stupnjeva ili stadija histoloških parametara kod **p19 (OMP)** pozitivnih i negativnih bolesnika utvrđena je statistička značajnost za sve pozitivne i negativne bolesnike osim u slučaju serološki pozitivnih bolesnika za intestinalnu metaplaziju korpusa ($p=0.812$) (Tabela 23). Usporedbom udjela bolesnika s različitim tipovima promjena (bez promjene/regresija/progresija) stupnja ili stadija histoloških parametara između p19 (OMP) pozitivnih i negativnih bolesnika nije utvrđena statistička značajnost za niti jedan histološki parametar.

Tabela 23. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p19 (OMP)pozitivnih i negativnih bolesnika.

	p19 (OMP)	rankovi			Wilcoxon rank sum test		Mann Whitney test	
		izjednačeni	negativni	pozitivni	Z	p	U	p
ATR OLGA	poz	9	45	3	-5.5	<0.001	957.0	0.087
	neg	13	25	2	-4.3	<0.001		
IM OLGA	poz	35	15	7	-2.3	0.023	961.0	0.143
	neg	17	19	4	-2.9	0.004		
ATR K	poz	29	27	1	-4.5	<0.001	1014.0	0.287
	neg	25	14	1	-2.7	0.005		
ATR A	poz	24	31	2	-4.4	<0.001	1046.5	0.435
	neg	20	19	1	-3.7	<0.001		
IM K	poz	50	4	3	-0.3	0.812	972.5	0.070
	neg	29	8	3	-2.1	0.032		
IM A	poz	36	14	7	-2.1	0.040	1068.0	0.545
	neg	22	14	4	-2.0	0.048		

6.11 Dinamika stupnjeva i stadija patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije prema endoskopskoj dijagnozi

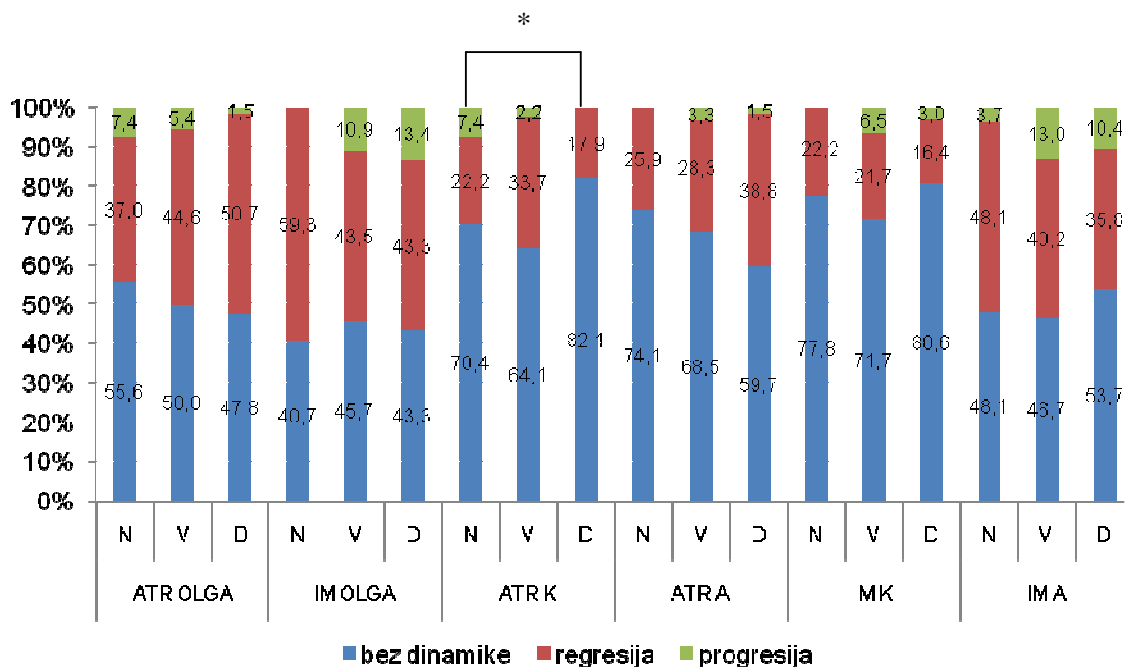
Analizom dinamičnosti patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije prema endoskopskoj dijagnozi dobiveni su sljedeći rezultati.

Kod svih ispitivanih histoloških parametara uočena je statistički značajna promjena stupnja ili stadija kod svih bolesnika osim onih s normalnim nalazom sluznice i atrofičnim gastritisom korpusa ($p=0.382$) te graničan nalaz za endoskopski nalaz duodenalnog ulkusa i intestinalnu metaplaziju korpusa ($p=0.068$) (Tabela 24). Usporedbom udjela bolesnika s različitim tipovima promjena (bez promjene/regresija/progresija) stupnja ili stadija histoloških parametara bolesnika i različitim endoskopskim dijagnozama utvrđena je statistička značajnost za atrofični gastritis korpusa ($p=0.042$) (Slika 26). Kod bolesnika s normalnim endoskopskim nalazom dominira udio bolesnika bez dinamike stupnja atrofičnog gastritisa (70.40%) te s progresijom stupnja (7.40%). U bolesnika s želučanim ulkusom udio bolesnika bez dinamike (64.10%) i s regresijom stupnja (33.70%), a kod bolesnika s duodenalnim ulkusom bez dinamike stupnja atrofičnog gastritisa korpusa (82.10%). U bolesnika s duodenalnim ulkusom nije utvrđena pojava progresije stupnja atrofičnog gastritisa korpusa u petogodišnjem razdoblju.

Tabela 24. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju prema endoskopskom nalazu.

	Dijagnoza*	rankovi			Wilcoxon rank sum test		Kruskal- Wallis test	
		izjednačeni	negativni	pozitivni	Z	p	χ^2	p
ATR OLGA	N	15	10	2	-2.274	0.021	0.172	0.918
	V	46	41	5	-5.118	<0.001		
	D	32	34	1	-4.782	<0.001		
IM OLGA	N	11	16	0	-3.516	<0.001	0.264	0.876
	V	42	40	10	-4.339	<0.001		
	D	29	29	9	-3.487	<0.001		
ATR K	N	19	6	2	-0.980	0.382	6.318	0.042
	V	59	31	2	-4.708	<0.001		
	D	55	12	0	-3.059	<0.001		
ATR A	N	20	7	0	-2.366	0.015	2.091	0.351
	V	63	26	3	-3.935	<0.001		
	D	40	26	1	-4.094	<0.001		
IM K	N	21	6	0	-2.201	0.031	1.956	0.376
	V	66	20	6	-3.238	<0.001		
	D	54	11	2	-1.851	0.068		
IM A	N	13	13	1	-3.076	<0.001	0.876	0.645
	V	43	37	12	-3.655	<0.001		
	D	36	24	7	-2.665	0.007		

*N- uredan nalaz, V- želučani ulkus; D- ulkus dvanaesnika



Slika 26. Dinamičnost (bez promjene/regresija/progresija) stupnja i stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR i intestinalna metaplazija - IM) antruma (A) i korpusa (K) želuca prema endoskopskoj dijagnozi (N – normalan nalaz; V- želučani ulkus; D- ulkus dvanaesnika).

6.12 Predikcija ishoda progresije patohistološkog nalaza u petogodišnjem intervalu prema početnom nalazu testiranih varijabli

Multivarijantnom analizom za svaki od patohistoloških parametara (atrofični gastritis i intestinalne metaplazija) na odvojenim anatomskim lokacijama (antrum (A) i korpus (K)) definiran je skup vrijednosti bazičnih varijabli koji najbolje predskazuje nepovoljni ishod dinamike tog histološkog parametra u petogodišnjem razdoblju - progresiju stupnja patohistološkog parametra. Statistički značajni rezultati analize prikazani su u Tabeli 25.

Za progresiju stupnja parametra atrofičnog gastritisa u antrumu (ATR A DIN) značajnim se pokazao nepovoljni ishod eradikacijske terapije, a za parametar atrofičnog gastritisa u korpusu (ATR K DIN) nepovoljni ishod eradikacijske terapije i negativan nalaz za prisutnost p120 (CagA). U analizi prema OLGA sistemu u progresiji stadija atrofije (ATR OLGA DIN) značajnim se parametrom pokazao neuspjeh eradikacijske terapije, stadij ATR OLGA u početnom nalazu i viša životna dob bolesnika. Istovjetno za intestinalnu metaplaziju prema OLGA sistemu (IM OLGA DIN) značajnim prediktorom progresije nalaza pokazali su se neuspjeh eradikacijske terapije, p 26 serološki negativan nalaz i viša životna dob bolesnika.

Ovom analizom nije se uspjela utvrditi kombinacija bazičnih parametara koja se može povezati s rizikom progresije patohistoloških parametara intestinalne metaplazije u antrumu i korpusu (analizirano prema Sydney sistemu).

Tabela 25. Rezultati multivarijantne analize za predikciju nepovoljnog ishoda dinamike (DIN) patohistoloških parametara (atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca. Analiza je bazirana na vrijednostima varijabli u početnom nalazu.

patohistološki parametar	OR	z	p	CI	
ATR A DIN progresija					
eradikacija (neuspjeh)	18	2.46	0.014	(1.802-179.703)	
ATR K DIN progresija					
eradikacija (neuspjeh)	8090748	10.6	<0.001	(427746.4-1.5310 ⁸)	
p120 (CagA) pozitivan nalaz	6.18x 10 ⁻⁸				
ATR OLGA DIN progresija					
eradikacija (neuspjeh)	9.805	2.91	0.004	(2.103-45.695)	
ATR OLGA stadij	1	2.944	1.38	0.166	(0.637-13.598)
	2				
	3				
	4				
eradikacija (neuspjeh)	13.779	3.24	0.001	(2.816-67.403)	
dob	1.037	1.08	0.282	(0.970-1.109)	
IM OLGA DIN progresija					
eradikacija (neuspjeh)	6.297	2.2	0.028	(1.221-32.468)	
p26 pozitivan nalaz	0.557	-0.77	0.443	(0.123-2.491)	
dob	1.058	1.64	0.100	(0.989-1.132)	

7. RASPRAVA

U ovom radu istražena je dinamika histoloških parametara: atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije u petogodišnjem intervalu nakon provedene eradikacijske terapije.

Općenito, u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije utvrđeno je statistički značajno sniženje udjela bolesnika s pozitivnim nalazom atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije na obje anatomske lokacije (antrum i korpus) želuca. Udio bolesnika s pozitivnim nalazom atrofičnog gastritisa u početnom nalazu iznosi 26.88% u korpusu, odnosno 33.33% u antrumu želuca. Nakon terapije 3.23% u korpusu i 2.69% u antrumu. Za intestinalnu metaplaziju su te razlike manje, ali isto tako statistički značajne. Tako se postotak pozitivnih nalaza za intestinalnu metaplaziju snizio s 32.26% na 19.35% u korpusu želuca, a u antrumu s 62.37% na 40.32%. Navedeno je imalo za posljedicu i statistički značajno sniženje udjela bolesnika s prisutnim stadijem (prema OLGA sistemu) većim od nula za oba patohistološka parametra. Kod bolesnika s atrofičnim gastritisom navedeno smanjenje iznosi s početnih 48.38% na 5.91%, a kod intestinalne metaplazije 71.50% na 38.70%.

Analizom dinamičnosti stupnjeva patohistoloških parametara (prema Sydney sistemu) dokazana je statistički značajna promjena stupnja i atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije na obje promatrane anatomske lokalizacije. U najvećeg dijela bolesnika nije došlo do promjene stupnja histološkog parametra atrofičnog gastritisa (antrum 66.13%, korpus 71.51%) niti intestinalne metaplazije (antrum 49.46%,

korpus 75.81%). Udio bolesnika bez dinamike patohistoloških parametara dominantno se odnosi na bolesnike bez prisutnog testiranog patohistološkog parametra u početnom nalazu. U toj skupini bolesnika udio bolesnika bez dinamike stupnja atrofičnog gastritisa iznosi > 97.79%, za obje anatomske lokacije. Udio bolesnika s progresijom je mali (< 2.2%) što doprinosi negativnom rezultatu testa statističke značajnosti dinamičnosti te podskupine bolesnika. Za navedenu podskupinu, udio bolesnika bez dinamike stupnja intestinalne metaplazije je veći od 80% pa je značajan i udio (< 17.14%) onih s progresijom stupnja (pojava intestinalne metaplazije u kontrolnom pregledu). To doprinosi pozitivnom testu statističke značajnosti dinamičnosti i kod bolesnika negativnih za intestinalnu metaplaziju u početnom nalazu. Za ovu podskupinu bolesnika razlika u zastupljenosti pojedinih tipova dinamike stupnja intestinalne metaplazije između antruma i korpusa je statistički značajna. Pri tom je prevladava udio bolesnika s progresijom nalaza u antrumu.

U početnom nalazu udio bolesnika s pozitivnim patohistološkim nalazom za atrofični gastritis korpusa iznosi 26.88%, atrofični gastritis antruma 33.34%, intestinalnu metaplaziju korpusa 32.25%, a intestinalnu metaplaziju antruma 62.36%. U 35.56% bolesnika prisutne su promjene na obje anatomske lokalizacije istovremeno. Regresija stupnja patohistoloških promjena odnosi se na 31.72 % od svih bolesnika za atrofični gastritis antruma te 26.34% korpusa. Za intestinalnu metaplaziju iznosi 39.78% u antrumu te 19.89% u korpusu. Udio bolesnika s prisutnom regresijom stupnja patohistološkog parametra dominantno se odnosi na bolesnike s pozitivnim nalazom za taj parametar u početnom nalazu. Na obje anatomske lokalizacije regresija stupnja prisutna je u > 95% bolesnika s pozitivnim

početnim nalazom za atrofični gastritis te u > 61% za intestinalnu metaplaziju. Progresija stupnja atrofičnog gastritisa podjednako je prisutna u antrumu i korpusu želuca (2.15%) dok je kod intestinalne metaplazije izraženija u antrumu (10.75%) nego korpusu (4.30%) želuca. Dinamičnost patohistoloških parametara u ovoj podskupini bolesnika (s pozitivnim početnim patohistološkim nalazom) je statistički značajna za oba patohistološka parametra i na obje anatomske lokalizacije.

Analiza histoloških nalaza prema OLGA sistemu objedinjuje nalaz prisutnih stupnjeva patohistoloških promjena na obje anatomske lokalizacije.^{167,168} Pri definiraju stadija bolesti uzima se u obzir osim stupnja i ekstenzivnost patohistoloških parametra. Atrofični gastritis i intestinalna metaplazija u bolesnika s *H. pylori* infekcijom uglavnom započinju u antrumu želuca. S vremenom se promjene šire prema korpusu, a u kasnijim fazama bolesti promjene su prisutne na obje lokalizacije. Sistem koji integrira sve navedene parametre može omogućiti bolji uvid u težinu bolesti. U skladu s time, analizirajući dinamičnost patohistoloških parametara prema OLGA sistemu, cilj je bio analizirati promjene stadija, a na taj način i opseg i stupanj navedenih premalignih promjena (težinu bolesti).

Rezultati ovog rada ukazuju na statistički značajnu dinamičnost stadija patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije u petogodišnjem intervalu nakon provedene eradikacijske terapije. Pri tome u 50% bolesnika nije utvrđena promjena stadija atrofičnog gastritisa, a istovjetno je prisutno u 44.09% bolesnika s intestinalnom metaplazijom. Kao i u analizi prema Sydney sistemu, navedeno se dominantno odnosi na bolesnike bez prisutnih patohistoloških promjena u početnom nalazu. Za oba patohistološka parametra u 45.70% od svih

bolesnika utvrđena je regresija stadija, a u 4.30% bolesnika s atrofičnim gastritisom te 10.22 % s intestinalnom metaplazijom progresija. Udio bolesnika s pozitivnim stadijem većim od nula u početnom nalazu i regresijom stadija za atrofični gastritis iznosi 94.44%, a intestinalnu metaplaziju 63.91%. Progresija stadija atrofičnog gastritisa je kod bolesnika s negativnim početnim nalazom je mala (< 4.17%) što doprinosi negativnom rezultatu testa statističke značajnosti dinamičnosti. U podskupini bolesnika s negativnim početnim nalazom za intestinalnu metaplaziju je viša 15.09% i doprinosi statistički značajnoj dinamičnosti. Uspoređujući razlike u udjelima bolesnika s različitim promjenama (bez dinamike/regresija/progresija) stadija patohistoloških parametara između atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije dokazana je statistička značajnost. Ona se povezuje s većim udjelom bolesnika s prisutnom progresijom stadija za intestinalnu metaplaziju. Ta razlika među navedenim parametrima je prisutna i u usporedbama podskupina bolesnika i s negativnim i pozitivnim početnim nalazom.

Može se zaključiti da su nakon primjene eradikacijske terapije promjene stupnja premalignih histoloških parametara statistički značajne. Značajan je udio bolesnika s regresijom stupnja oba patohistološka parametra. Razlika u udjelima bolesnika s različitim tipovima dinamičnosti stupnja intestinalne metaplazije statistički se značajno razlikuje između antruma i korpusa želuca za intestinalnu metaplaziju. Općenito, može se zaključiti da je utvrđena statistički značajna dinamičnost patohistoloških parametara posljedica statistički značajnog udjela bolesnika s regresijom stupnjeva atrofičnog gastritisa u antrumu i korpusu želuca kod bolesnika s početnim pozitivnim nalazom. Dio te dinamičnosti, na obje anatomske lokalizacije, odnosi se i na bolesnike s progresijom nalaza intestinalne metaplazije neovisno o

početnom patohistološkom nalazu te atrofičnog gastritisa kod bolesnika s pozitivnim početnim nalazom.

Prema smjernicama Maastricht konsenzusa atrofični gastritis s pozitivnim nalazom *H. pylori* infekcije indikacija je za eradikacijsku terapiju.²¹⁵ Međutim, rezultati studija u kojima je istražena reverzibilnost patohistoloških promjena atrofije i intestinalne metaplazije nakon eradikacije bakterije *H. pylori* su kontradiktorni.²⁰⁷ Ranije studije često su učinjene na manjim uzorcima ispitanika. Vrijeme praćenja i metode analize histološkog nalaza sluznice se razlikuju. Povoljan efekt eradikacijske terapije značajno ovisi i o vremenu praćenja. Smatra se da proces oporavka sluznice prati eksponencijalnu krivulju kao i sam slijed kancerogeneze. Kod toga u je u prvih 5 godina od eradikacije taj učinak minimalan, a nakon toga značajno raste. Stoga se efekt eradikacijske terapije može ispravno procijeniti tek nakon 5 godina od provedene terapije.²⁰⁰

U ovom radu učinjena je evaluacija dinamike premalignih patohistoloških promjena nakon provedene eradikacijske terapije kod 186 bolesnika u petogodišnjem vremenskom intervalu. Analizirajući efekt uspjeha eradikacijske terapije bolesnici su podijeljeni u podgrupe prema nalazu pozitiviteta na *H. pylori* u patohistološkim uzorcima u 5- oj godini. Metodološki bi možda bilo ispravnije efekt terapije na dinamiku parametara istražiti uspoređujući liječene bolesnike s placebo grupom. Ipak, budući je *H. pylori* dokazani kancerogen I reda i da se radi o bolesnicima s premalignim patohistološkim promjenama u dugačkom vremenu praćenja i raniji pokušaji provedbe tako dizajniranih studija rezultirali slabim uključivanjem bolesnika.²⁰⁹ Sama etičnost takvih studija je upitna. Stoga smo se u ovoj studiji

odlučili na model istraživanja dinamičnost kod uspješno eradikiranih i ne - eradikiranih bolesnika u duljem vremenskom razdoblju. Smatramo da navedeni model odražava situaciju u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Naime, prema smjernicama Maastricht konsenzusa nije sporna indikacija za primjenu eradikacijske terapije u bolesnika s premalignim promjenama.²¹⁵ Uspješna eradikacijska terapija povezana je s prevencijom metakronog karcinoma želuca kod bolesnika s ranijom resekcijom želuca radi ranog karcinoma. Međutim, i dalje ostaje otvoreno pitanje optimalnog vremena praćenja i efekta terapije na dinamiku premalignih promjena. Obzirom na njihovu sporu dinamičnost, petogodišnje razdoblje smatramo dovoljno dugim da se ona utvrdi ako je ona prisutna.

Analizirajući dinamičnost stupnjeva patohistoloških parametara, odvojeno za bolesnike s uspješnom i neuspješnom eradikacijom bakterije, utvrđena je statistički značajna dinamičnost samo kod uspješno eradikiranih bolesnika (za oba parametra). Udio uspješno eradikiranih bolesnika s regresijom stupnja atrofičnog gastritisa u antrumu je za 13.07%, a u korpusu za 14.87%, veći nego kod ne - eradikiranih. Obrnuto, udio bolesnika s progresijom stupnja niži je kod eradikiranih nego ne - eradikiranih. Za antrum želuca ta razlika iznosi 9.70%, a korpus 5.63%. Kod bolesnika s prisutnom intestinalnom metaplazijom, u 10.37% više eradikiranih nego ne - eradikiranih bolesnika utvrđena je regresija stupnja patohistološkog parametra antruma: Navedena razlika za korpus želuca iznosi 5.03%. Statistički značajna razlika u prisutnim tipovima promjena (bez dinamike/progresija/regresija) između eradikiranih i ne - eradikiranih bolesnika utvrđena je za atrofični gastritis na obje anatomske lokalizacije. Za intestinalnu metaplaziju ta razlika nije statistički značajna.

Analizirajući dinamičnost stadija (prema OLGA sistemu) atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije u petogodišnjem razdoblju, utvrđena je statistički značajna promjena kod eradikiranih, ali ne i ne - eradikiranih bolesnika. Postotak bolesnika s atrofičnim gastritisom i regresijom stadija u eradikiranih je za 21.45% veći u odnosu na ne – eradikirane: Ta razlika za intestinalnu metaplaziju iznosi 9.20%. Udio bolesnika s progresijom stadija je manji kod uspješno eradikiranih u odnosu na ne - eradikirane. Ta razlika u postotku za atrofični gastritis iznosi 15.33%, a intestinalnu metaplaziju 8.32%. Navedene razlike u udjelima bolesnika s različitim ishodima dinamike stadija patohistoloških parametara, između eradikiranih i ne – eradikiranih, statistički su značajne za atrofični gastritis, ali ne i intestinalnu metaplaziju. Navedeno je sukladno rezultatima dobivenim analizom po Sydney sistemu (razlika je prisutna samo za atrofični gastritis). Očigledno je da je dinamičnost intestinalne metaplazije nakon primijenjene eradikacijske terapije značajna, ali u tome osim uspjeha eradikacijske terapije važnu ulogu imaju i drugi, neistraženi faktori.

Multivarijantnom analizom statistički značajnim faktorom za nepovoljni ishod dinamike stupnja/stadija - progresija patohistološkog parametara atrofičnog gastritisa antruma i korpusa te stadija atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije pokazao se neuspjeh eradikacijske terapije. Za progresiju stupnja intestinalne metaplazije u antrumu i korpusu (analiziranim prema Sydney sistemu) neuspjeh eradikacijske terapije i početni stupanj patohistološkog parametra nisu se pokazali statistički značajnim faktorima. Stoga se analiza po OLGA sistemu kod intestinalne metaplazije može smatrati relevantnijom u analizi predikcije nepovoljnog odgovora na neuspjeh eradikacijske terapije.

Analizom utjecaja prisutnosti čimbenika virulencije na dinamiku histoloških parametara može se zaključiti da je u većine testiranih čimbenika virulencije prisutna statistički značajna dinamičnost stupnjeva i stadija histoloških parametara atrofičnog gastritisa antruma i korpusa i kod serološki pozitivnih i negativnih bolesnika nakon provedene eradikacijske terapije. Navedeno se podudara i s generalno prisutnom dinamičnošću patohistoloških rezultata. Odstupanja su prisutna kod bolesnika s intestinalnom metaplazijom na obje lokalizacije za neke čimbenike virulencije. To se odnosi na: serološki pozitivne bolesnike za p95 (VacA) i p30 (OMP) i serološki negativne za p29 (UreA) i p26 s intestinalnom metaplazijom antruma, serološki negativne bolesnike za p95 (VacA), p30 (OMP) i p26 s intestinalnom metaplazijom korpusa i serološki pozitivne bolesnike za p30 (OMP), p 29 (UreA), p26 i p 19 (OMP) s intestinalnom metaplazijom korpusa.

Usporedbom proporcija bolesnika s različitim tipovima promjena (bez promjene/regresija/progresija) stupnja ili stadija patohistoloških parametara, između serološki pozitivnih i negativnih bolesnika, utvrđena je statistička značajnost za čimbenike virulencije u p29 (UreA) i p26. Kod p29 (UreA) serološki pozitivnih bolesnika s atrofičnim gastritisom (prema OLGA sistemu) dominira udio bolesnika s regresijom stadija (77.30%), a u negativnih s regresijom (61.30%) i bez dinamike stadija (35.50%). Dodatno, u p29 (UreA) serološki pozitivnih bolesnika s intestinalnom metaplazijom (prema OLGA sistemu) značajan je udio onih bez dinamike (62.10%), a u serološki negativnih s regresijom (51.60%) stadija histološkog parametra. U p26 serološki pozitivnih bolesnika s intestinalnom metaplazijom u korpusu, dominantan je udio bez promjene (91.7%), a serološki

negativnih s regresijom (18.00%) i progresijom (10.20%) stupnja. Podjednako analizom po OLGA sistemu, u serološki pozitivnih dominira udio bolesnika bez dinamike stadija. Kod serološki negativnih gotovo su izjednačeni udjeli bolesnika bez dinamike (44.90%) i s regresijom (38.80%) uz značajan dio (16.30%) onih s progresijom stadija intestinalne metaplazije.

Multivarijantnom analizom prediktorima nepovoljnog ishoda dinamičnosti (progresija stupnja ili stadija) histoloških parametara gastritisa pokazali su se: p120 (CagA) serološki negativan nalaz za atrofični gastritis korpusa i p26 serološki negativan nalaz za intestinalnu metaplaziju po OLGA sistemu. Značenje navedenih nalaza za patogenetske mehanizme ključne za dinamičnost intestinalne metaplazije teško je objasniti i prelazi okvire ovog rada. Moguće je da se radi o utjecaju i drugih faktora kao što je veličina udjela bolesnika s negativnim početnim nalazom za taj histološki parametar (kod kojih je nalaz dinamičnosti za neke patohistološke parametre negativan). U do sada objavljenoj literaturi nedostaju istraživanja o utjecaju prisutnosti čimbenika virulencije na dinamičnost premalignih patohistoloških parametara. Rezultati ovog rada stoga su putokaz za dalja istraživanja uloge čimbenika virulencije p120 (CagA), p29 (UreA) i p26 u patogenetskim procesima ključnim za dinamiku premalignih patohistoloških parametara.

U ovom istraživanju dinamičnost patohistoloških promjena dokazana je u kod svih bolesnika neovisno o prisutnoj endoskopskoj dijagnozi osim, za bolesnike s normalnim nalazom sluznice i atrofičnim gastritisom korpusa ($p=0.382$). Usporedbom proporcija bolesnika s različitim ishodima dinamike stupnja (bez dinamike/regresija/progresija) atrofičnog gastritisa korpusa utvrđena je statistički

značajna razlika ($p=0.042$) između bolesnika s različitim endoskopskim dijagnozama. Kod bolesnika s normalnim endoskopskim nalazom dominira udio bolesnika bez dinamike stupnja atrofičnog gastritisa (70.40%) te s progresijom stupnja (7.40%). U bolesnika s želučanim ulkusom dominira udio bolesnika bez dinamike (64.10%) i s regresijom stupnja (33.70%), a kod bolesnika s duodenalnim ulkusom bez dinamike stupnja atrofičnog gastritisa korpusa (82.10%). U bolesnika s duodenalnim ulkusom nije utvrđena pojava progresije stupnja atrofičnog gastritisa korpusa u petogodišnjem razdoblju.

I ranijim istraživanjima dokazano je da atrofične promjene u antrumu kod bolesnika s duodenalnim ulkusom značajnije regrediraju nego u bolesnika s želučanim ulkusom. Budući je pojava duodenalnog ulkusa povezana s hiperklorhidrijom navedeno se može povezati s većim udjelom bolesnika s manjim početnim stupnjem atrofičnih promjena. Razlika u postotku bolesnika s duodenalnim ulkusom i nižim stupnjevima patohistoloških parametara odnosu na bolesnike s normalnim nalazom i želučanim ulkusom iznosi 5 i 16 %. Stoga je i sposobnost sluznice za oporavak nakon eradikacije *H. pylori* izraženija. Kod bolesnika s želučanim ulkusom češće je prisutna hipoklorhidrija i viši stupnjevi atrofičnog gastritisa korpusa stoga je udio bolesnika s progresijom stupnja histološkog parametra viši.

Neupitna je potreba eradikacijske terapije u prevenciji maligne bolesti, pa i regresiji premalignih promjena.²¹⁶ Odgovor na pitanje kada i koja populacija pri tom ima najveću dobrobit prema rezultatima ovog rada glasi: dobrobit od primjene eradikacijske terapije u smislu prevencije progresije premalignih patohistoloških

parametara imaju svi bolesnici, neovisno o početnoj prisutnosti premalignih promjena. Osim za atrofični gastritis po OLGA sistemu nalaz početnog stupnja ili stadija patohistoloških parametra nije se pokazao nepovoljnim faktorom progresije bolesti. Također se to odnosi na serološki pozitivitet na čimbenike virulencije te pojedine endoskopske dijagnoze. Međutim efekt terapije ovisi značajno o njejoj uspješnosti. Stoga je kod bolesnika s prisutnim premaligim promjenama potrebno ustrajati u nastojanjima eradikacije infekcije. Kod bolesnika s atrofičnim gastritisom uspješnom eradikacijskom terapijom postignut je statistički značajan pad u udjelu bolesnika s progresijom patohistološkog parametra.

Analizirajući dinamičnost razine enzima u petogodišnjem razdoblju utvrđena je statistički značajna promjena razine svih testiranih enzima (PGI, PGII, omjer PGI/II i G17). Median razine enzima PGI i PGII je značajno niži nego u početnom nalazu. Analizom dinamičnosti nalaza razine enzima udio bolesnika s padom razine enzima za PGI je 55.81%, a PGII 76.74%. Udio bolesnika s porastom razine PGI iznosi 27.91%, a PGII 13.95%. Median razine enzima G17 je bez promjene (u 61.80% bolesnika nije utvrđena promjena razine enzima). Median omjera razina enzima PGI/II je u porastu (u 74.42% bolesnika utvrđen je porast razine enzima). Navedeno se podudara s rezultatima *Kawai T* i au. koji su istraživali dinamiku razine enzima PGI i PGII kod bolesnika s atrofičnim gastritisom i intestinalnom metaplazijom nakon provedene eradikacijske terapije.¹⁸² U tom radu razina PGI i PGII u prvih 2 mjeseca nakon eradikacijske terapije pada što se objašnjava efektom nestanka efekta inflamacije na razinu enzima. Nakon toga razina enzima je u porastu uz histološki regresiju stupnja atrofičnog gastritisa na obje anatomske lokalizacije u želucu. Porast

razine enzima se stabilizira i ostaje stabilan nakon 12 mjeseci, ali je maksimalna razina niža od početne razine (prije provedene terapije).

Analizirajući odvojeno dinamičnost razine enzima za eradikirane i ne - eradikirane bolesnike, razina enzima statistički se značajno mijenja za eradikirane bolesnike, a za ne - eradikirane je statistička značajnost utvrđena za enzim PGII i omjer razine enzima PGI/II. Usporedbom udjela bolesnika s različitim tipovima dinamike enzima (bez promjene razine/porast ili pad razine) ne nalazi se statistička značajna razlika između eradikiranih i ne - eradikiranih bolesnika za sva tri testirana enzima. Za omjer razine enzima PGI/II je ta razlika granična ($p=0.095$). Ipak, uspoređujući dinamičnost razine enzima mora se napomenuti da je grupa ne - eradikiranih bolesnika kojima je određena razine enzima PGI i PGII izrazito mala ($n=7$), kao i za enzim G17 ($n=13$). Stoga su za pouzdanije rezultate potrebna dalja istraživanja na većoj grupi bolesnika.

Korelacijom nalaza razine enzima i pojedinih stupnjeva patohistoloških parametara atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije utvrđena je statistički značajna korelacija rezultata za kombinaciju enzima G17 i intestinalnu metaplaziju korpusa u početnom nalazu. Razina enzima pozitivno korelira s porastom stupnja histološkog parametra ($r=0.248$, $p=0.019$). Navedeni rezultat je očekivan. Porastom stupnja intestinalne metaplazije nestaje dio zdrave sluznice korpusa što dovodi do pada razine lučenja želučane kiseline i posljedičnog porasta razine gastrina. Granični rezultati pozitivne korelacije utvrđeni su za enzim G17 i patohistološke parametre atrofičnog gastritisa korpusa ($r=0.205$, $p=0.053$) te stadija atrofičnog gastritisa prema

OLGA sistemu ($r=0.184$; $p=0.085$) u početnom nalazu. Patogenetski mehanizam jednak je onom ranije navedenom za intestinalnu metaplaziju.

Za enzime PGI i PG II utvrđeni su granični nalazi statističke značajnosti negativne korelacije za histološki parametar atrofičnog gastritisa u korpusu želuca ($r=-0.261$, $p=0.091$ za PGI te $r=-0.255$ i $p=0.099$ za PGII) kod prvog pregleda. Navedena korelacija se gubi u kontrolnom pregledu, ali se pojavljuje graničan nalaz za negativnu korelaciju razine enzima PGI i PGII i intestinalnu metaplaziju u korpusu želuca (PGI $r=-0.268$, $p=0.083$; PGII $r=-0.264$, $p=0.087$). Objašnjenje navedenih pojava je u činjenici da se s porastom stupnja atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije korpusa smanjuje se masa stanica koje luče PGI i PGII. Razlike u korelacijama nalaza u početnom nalazu i kontroli mogu se objasniti manjim udjelom bolesnika s atrofičnim gastritisom ($n=6$), ali ipak većem intestinalne metaplazije korpusa u kontrolnom pregledu ($n=36$) što utječe na rezultat analize statističke značajnosti.

Za omjer razine enzima PGI/II u kontrolnom nalazu utvrđen je granični nalaz statističke značajnosti pozitivne korelacije za histološke parametre atrofični gastritis po OLGA sistemu ($r=0.260$, $p=0.093$) te atrofični gastritis antruma ($r=0.273$, $p=0.076$). Porastom stupnja atrofije antruma dolazi i do porasta stadija po OLGA sistemu stoga se kod oba smanjuje masa stanica koje luče PGII u antrumu želuca, a posljedično raste razina omjera PGI/II (PGI se ne luči u antrumu pa se njegova razina se ne mijenja).

Iz rezultata ovog istraživanja može se zaključiti da razina enzima pokazuje tendenciju korelacije s pojedinim stupnjevima patohistoloških parametara, pogotovo se to odnosi na razinu enzima G17 intestinalnu metaplaziju korpusa želuca u prvom pregledu. Neke statistički značajne i granične korelacije iz prvog pregleda nestaju u kontrolnom nalazu (nakon provedene eradikacijske terapije), a druge se pojavljuju. Navedeno se podudara s rezultatima ranije spomenutog istraživanja *Kawai T i au.* gdje razina enzima PGI i omjera PGI/II korelira s patohistološkim nalazom atrofičnog gastritisa korpusa u početnom nalazu, ali ta korelacija gubi statističku signifikantnost nakon 12 mjeseci od primjene eradikacijske terapije.¹⁸² Radi bolje procijene potrebno je dalje istraživanje na većem uzorku ispitanika.

U dosadašnjim istraživanjima serološke metode značajno se razlikuju u prikazanoj senzitivnosti i specifičnosti za otkrivanje atrofičnog gastritisa. Studije su provedene na različitim populacijama s različitom prevalencijom atrofičnog gastritisa. Primijenjene dijagnostičke metode, parametri koji se njima određuju i granične vrijednosti također se značajno razlikuju. Mnoge studije ne koriste iste patohistološke klasifikacije uz poznata ograničenja koja se navode u interpretaciji patohistoloških nalaza. U mnogim studijama ne analiziraju se odvojeno antrum i korpus želuca. Dok se u nekim studijama analiziraju odvojeno pojedini stupnjevi atrofičnog gastritisa, a u drugima su oni grupirani u veće skupine.²¹⁷ U meta analizi *Mikki K. i au.* zbog izrazite heterogenosti provedenih ispitivanja nije se mogla utvrditi najpovoljnija granična vrijednost PGI i PGI/II za detekciju premalignih promjena.²¹⁸ Stoga zaključuju da je razina (PGI <70 µg/L i PGI/II <3) koja se koristi u protokolima probira za karcinom želuca najpovoljnija (senzitivnost 73.2%, specifičnost 77.3%, NPV 80 - 99.9%). U svim studijama PPV je nizak (oko 20). Zbog visoke NPV autori zaključuju da je

određivanje razine PGI i omjera PGI/II pogodno za praćenja bolesnika s premalignim promjenama. Iako praćenje dinamike enzima nije istraženo u probiru bolesnika s karcinomom želuca, pad razine PGI/II povezuje se progresijom atrofičnog gastritisa te time i rizikom karcinoma želuca.²¹⁹ Dokazano je da je vrijednost PGI/II niža u ispitanika starije životne dobi i *H. pylori* pozitivnih. Međutim, iz učinjenih studija nije moguće utvrditi modifikaciju granične vrijednosti uzimajući u obzir navedene parametre. Također nije moguće izvesti zaključke o mogućem utjecaju ostalih faktora koji utječu na koncentraciju PGI i PGII (npr. alkohol, pušenje, spol,...). Kao i u ranijim studijama može se zaključiti da je potrebna reevaluacija testova u našoj populaciji.²²⁰ U našem radu median vrijednosti razine enzima PGI, PGII i omjera PGI/II u početnom nalazu je visok. Kod većine bolesnika razina enzima je iznad granične vrijednosti navedene u testu i u ranijim studijama. Radi postizanja bolje senzitivnosti testa optimalne granične vrijednosti za enzime PGI i omjer PGI/II u našoj populaciji vjerojatno bi trebale biti više.

Iako se povećanje udjela bolesnika s regresijom premalignih patohistoloških promjena eradikacijom *H. pylori* ne mora nužno poistovjetiti s prevencijom karcinoma želuca. Ipak, može se istaknuti da u navedenom vremenskom periodu nije utvrđen niti jedan slučaj karcinoma želuca. Čini se vjerojatnim da je, nakon provedene eradikacijske terapije s vrlo povoljnim efektom na regresiju premalignih promjena, kod bolesnika s pozitivnim početnim nalazom regeneracija normalne oksintične sluznice moguća.²²¹ U našem istraživanju pozitivna obiteljska anamneza za karcinoma želuca u srodnika nije se pokazala značajnim faktorom za ishod progresije patohistoloških parametara. Prema rezultatima multivarijantne analize za progresiju stupnja parametra atrofičnog gastritisa u antrumu značajnim se pokazao nepovoljni

ishod eradikacijske terapije, a za parametar atrofičnog gastritisa u korpusu nepovoljni ishod eradikacijske terapije i negativan nalaz za prisutnost p120 (CagA). U analizi prema OLGA sistemu u progresiji stadija atrofije značajnim se parametrom pokazao neuspjeh eradikacijske terapije, viši stadij atrofije u početnom nalazu i viša životna dob bolesnika. Istovjetno za intestinalnu metaplaziju prema OLGA sistemu značajnim faktorom progresije stadija pokazali su se neuspjeh eradikacijske terapije, p 26 serološki negativan nalaz i viša životna dob bolesnika. Ovom analizom nije se uspjela utvrditi kombinacija bazičnih parametara koja se može povezati s rizikom progresije patohistoloških parametara intestinalne metaplazije u antrumu i korpusu (analizirano prema Sydney sistemu).

Iz sveg navedenog može se zaključiti da je u većine naših ispitanika nakon provedene eradikacijske terapije zamijećena regresija patohistoloških promjena. U manjeg dijela bolesnika s progresijom nalaza parametri relevantni za progresiju premalignih promjena su neuspjeh terapije, serološki negativan odgovor na p120 (CagA) i p26 čimbenike virulencije te viši stadiji početnih patohistoloških nalaza za atrofični gastritis po OLGA sistemu. U prepoznavanju bolesnika s progresijom ili regresijom premalignih promjena važno dodatno istražiti i ulogu faktora domaćina i okoline nedovoljnih ispitanih ovim istraživanjem. Uspješnom eradikacijom *H. pylori* moguće je prevenirati progresiju stupnja i stadija atrofičnog gastritisa u većine bolesnika. Za intestinalnu metaplaziju uspjeh eradikacijske terapije nije se pokazao dovoljnim za prevenciju progresije stupnja patohistološkog parametra.

8. ZAKLJUČCI

1. Primjenom eradikacijske terapije u bolesnika s prisutnim premalignim patohistološkim promjenama u petogodišnjem vremenskom intervalu prisutna je statistički značajna dinamičnost stupnjeva i stadija atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije.
2. U većine bolesnika s pozitivnim početnim nalazom za navedene premaligne promjene nakon provedene eradikacijske terapije prisutna je regresija stupnja ili stadija patohistološkog parametra. U dijela bolesnika s navedenima promjenama moguća je kompletna regresija do razine urednog nalaza.
3. Kod bolesnika s negativnim početnim nalazom za atrofični gastritis statistički značajna dinamičnost stupnja patohistološkog parametra nije utvrđena.
4. Kod bolesnika negativnih u početnom nalazu za intestinalnu metaplaziju prisutna je statistički značajna dinamičnost stupnja patohistološkog parametra i u dijela bolesnika utvrđena je progresija nalaza.
5. U petogodišnjem intervalu dinamičnost patohistoloških nalaza povezana je s uspješnom eradikacijom bakterije *H. pylori*.
6. U uspješno eradikiranih bolesnika utvrđen je statistički značajno veći udio bolesnika s regresijom te manji s progresijom stupnja ili stadija patohistološkog parametra.
7. U neuspješno eradikiranih bolesnika dinamičnost stupnjeva ili stadija patohistoloških parametara nije statistički značajna.
8. Neovisno o serološkom statusu bolesnika, za čimbenike virulencije: p 120 (CagA), p95 (VacA), p29 (OMP), p 26, p19 (OMP) prisutna je statistički

značajna dinamičnošću stadija i stupnjeva atrofičnog gastritisa na obje anatomske lokalizacije. Kod intestinalne metaplazije moguća su odstupanja od statistički značajne dinamičnosti ovisno o serološkom statusu na sve testirane čimbenike virulencije.

9. Kod svih bolesnika, neovisno o endoskopskoj dijagnozi, prisutna je statistički značajna dinamičnost patohistoloških parametara osim kod bolesnika s normalnim nalazom sluznice želuca i atrofičnim gastritisom korpusa.
10. Prediktor progresije atrofičnog gastritisa antruma je nepovoljni ishod eradikacijske terapije.
11. Prediktori progresije stupnja atrofičnog gastritisa u korpusu su nepovoljni ishod eradikacijske terapije i negativan nalaz za prisutnost p120 (CagA).
12. Prediktori progresije stadija atrofičnog gastritisa prema OLGA sistemu su neuspjeh eradikacijske terapije, viši stadij atrofije u početnom nalazu i viša životna dob bolesnika.
13. Prediktori progresije stadija intestinalne metaplazije prema OLGA sistemu su neuspjeh eradikacijske terapije, negativan serološki nalaz za p26 i viša životna dob bolesnika.
14. Ovom analizom nije se uspjela utvrditi kombinacija bazičnih parametara koja se može povezati s rizikom progresije stupnja patohistoloških parametara intestinalne metaplazije u antrumu i korpusu (analizirano prema Sydney sistemu).
15. Dinamičnost enzima PGI, PGII, omjera PGI/II i G17 statistički je značajna u petogodišnjem intervalu nakon provedene eradikacijske terapije. Navedeno je prisutno kod uspješno eradikiranih bolesnika i za enzime PGII i omjer PGI/II kod ne – eradikiranih bolesnika.

16. U petogodišnjem intervalu nakon provedene eradikacijske terapije utvrđeno je sniženje vrijednosti mediana razine enzima PGI i PGII, povišenje omjera razina enzima PGI/II uz nepromijenjenu razinu enzima G17 u odnosu na vrijednost prije početka terapije.
17. Utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija nalaza razine enzima G17 i stupnja intestinalne metaplazije u početnom nalazu. Za ostale enzime utvrđena je granična razina statističke značajnosti korelacije s premalignim histološkima parametrima u početnom i kontrolnom nalazu.
18. Korelacija razine enzima i pojedinih stupnjeva i stadija patohistoloških parametara dominantno je prisutna u početnom nalazu, ali i za neke enzime u kontrolnom nalazu.
19. Uspješnom eradikacijom *H. pylori* moguće je prevenirati progresiju stupnja i stadija atrofičnog gastritisa u većine bolesnika. Za intestinalnu metaplaziju uspjeh eradikacijske terapije nije se pokazao dovoljnim za prevenciju progresije stupnja patohistološkog parametra.

9. POPIS SLIKA

Slika 1. Patogeneza promjena povezanih s proteinom CagA.....	12
Slika 2. Patogenetski mehanizmi povezani s proteinom VacA.	15
Slika 3. Anatomske lokalizacije lučenja pepsinogena I (PGI), pepsinogena II (PGII) i gastrina (G) u želucu.	1
Slika 4. Sekvencijalna pojava premalignih promjena u intestinalnom tipu karcinoma želuca.....	33
Slika 5. Anatomske lokacije želuca za uzimanje uzoraka po Sydney sistemu (1- antrum prednja stijenka; 2- antrum stražnja stijenka; 3- korpus prednja stijenka; 4- korpus stražnja stijenka).....	42
Slika 6. Razina enzima PGI, PGII, PGI/II i G17 u atrofičnom i neutrofičnom gastritisu antruma i/ili korpusa želuca.....	48
Slika 7. Razdioba bolesnika prema dobi starijoj ili mlađoj od 45 godina.	76
Slika 8 Razdioba bolesnika prema endoskopskom nalazu.....	77
Slika 9. Razdioba bolesnika prema početnom patohistološkom nalazu i prisutnim stupnjevima (0=nema, 1= rijetko, 2= osrednje, 3= obilno) atrofičnog gastritisa (ATR) i/ili intestinalne metaplazije (IM) antruma (A) i korpusa (K) sluznice želuca.....	78
Slika 10. Razdioba bolesnika prema zastupljenosti pojedinih stadija (0-1-2-3-4) početnog histološkog nalaza atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) prema OLGA sistemu.	79
Slika 11. Razdioba ispitanika prema početnom patohistološkom nalazu atrofičnog gastritisa (ATR), intestinalne metaplazije (IM) ili obje (ATR i IM) promjene istovremeno.	80

Slika 12. Udijeli bolesnika s prisutnim antitijelima na 6 čimbenika virulencije: p120 (CagA), p95 (VacA), p30 (OMP), p29 (UreA), p26, p19 (OMP) bakterije <i>H. pylori</i>	82
Slika 13. Razdioba bolesnika prema uspjehu eradikacijske terapije u 5-oj godini. ...	84
Slika 14. Razdioba bolesnika prema zastupljenosti pojedinih stupnjeva patohistološkog nalaza atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u korpusu (K) i antrumu (A) želuca u 5-oj godini nakon eradikacijske terapije.	86
Slika 15. Razdioba bolesnika prema zastupljenosti pojedinih stadija atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u 5- o j godini nakon provedene eradikacijske terapije (prema OLGA sistemu).....	87
Slika 16. Dinamika (bez promjene, regresija ili progresija) stupnja patohistoloških parametara - atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u 5-godišnjem razdoblju prema Sydney (odvojeno za A - antrum i K - korpus) i stadija prema OLGA sistemu.	89
Slika 17. Dinamika (bez promjene, pad razine ili porast razine) razine enzima PGI, PGII, omjera PGI/II i G17 u 5-godišnjem razdoblju.	91
Slika 18. Razina enzima u početnom nalazu (PP) i nalazu u 5-oj godini (Ko) nakon provedene eradikacijske terapije (median, raspon minimalne i maksimalne vrijednosti te interkvartilni raspon).	92
Slika 19. Dinamika (bez promjene, regresija ili progresija) stupnja patohistoloških parametara - atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) antruma (A) i korpusa (K) želuca prema prisutnosti patohistološkog parametra u početnom nalazu.	98
Slika 20. Dinamika patohistoloških parametara u 5-godišnjem intervalu po Sydney sistemu (ATR- atrofični gastritis, IM- intestinalna metaplazija, A- antrum, K- korpus, E- eradikirani, NE- ne- eradikirani).	100

Slika 21. Dinamika patohistoloških parametara u 5-godišnjem intervalu po OLGA sistemu (ATR- atrofični gastritis, IM- intestinalna metaplazija, NE- ne- eradikirani, E- eradikirani).....	101
Slika 22. Dinamika enzima (PGI, PGII, G17 i omjera PGI/II) kod eradikiranih i ne-eradikiranih bolesnika u 5-godišnjem razdoblju.....	103
Slika 23. Korelacija razine enzima G17 i stupnja patohistološkog parametra intestinalne metaplazije u korpusu (IM K) kod prvog pregleda (PP).....	106
Slika 24. Dinamičnost stupnja i stadija histoloških parametra (atrofičnog gastritisa - ATR i intestinalne metaplazije - IM) antruma (A) i korpusa (K) želuca kod p29 (UreA) serološki pozitivnih i negativnih bolesnika.....	116
Slika 25. Primjena stupnja /stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR i intestinalna metaplazija - IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca kod p26 serološki pozitivnih i negativnih bolesnika.....	118
Slika 26. Dinamičnost (bez promjene/regresija/progresija) stupnja i stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR i intestinalna metaplazija - IM) antruma (A) i korpusa (K) želuca prema endoskopskoj dijagnozi (N – normalan nalaz; V- želučani ulkus; D- ulkus dvanaesnika).....	122

10. POPIS TABELA

Tabela 1. Egzokrina funkcija želučane sluznice prema anatomskim područjima.....	19
Tabela 2. Endokrina funkcija želučane sluznice prema anatomskim područjima.....	20
Tabela 3. Patohistološki dio Sydney sistema.....	39
Tabela 4. Stadiji patohistološkog nalaza atrofičnog gastritisa prema OLGA sistemu.	44
Tabela 5. Popis testiranih varijabli i očekivanih rezultata.....	71
Tabela 6. Razdioba patohistoloških promjena u početnom patohistološkom nalazu prema zastupljenosti promjena na pojedinim anatomskim lokalizacijama želuca.	81
Tabela 7. Početna razina enzima PGI, PGII, PGI/II i G17.	83
Tabela 8. Broj provedenih ciklusa eradikacijske terapije ovisno o uspjehu eradikacijske terapije u 5-oj godini.	85
Tabela 9. Razina enzima PGI, PGII, PGI/II i G17 u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije.	90
Tabela 10. Dinamičnost stupnjeva i stadija patohistoloških parametara (atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije) te razine enzima (PGI, PGII, PGI/II, G17) u petogodišnjem razdoblju nakon provedene eradikacijske terapije.....	94
Tabela 11. Dinamičnost patohistoloških parametara u petogodišnjem intervalu nakon provedene eradikacijske terapije ovisno o prisutnosti testiranog histološkog parametra u početnom nalazu.....	96
Tabela 12. Razina enzima u početnom nalazu i nalazu u 5-oj godini nakon provedene eradikacijske terapije kod uspješno eradikiranih i ne – eradikiranih bolesnika.....	102

Tabela 13. Dinamičnost patohistološkog nalaza i razine enzima u petogodišnjem razdoblju nakon provedene eradikacijske terapije ovisno o uspjehu terapije.	105
Tabela 14. Korelacija rezultata razine enzima PGI u početnom nalazu i kontroli s nalazom histoloških parametara (atrofični gastritis – ATR i intestinalna metaplazija – IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca.	108
Tabela 15. Korelacija rezultata razine enzima PGII u početnom nalazu i kontroli s nalazom histoloških parametara (atrofični gastritis – ATR i intestinalna metaplazija – IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca.	108
Tabela 16. Korelacija rezultata omjera razine enzima PGI/II u početnom nalazu i kontroli s nalazom histoloških parametara (atrofični gastritis – ATR i intestinalna metaplazija – IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca.	109
Tabela 17. Korelacija rezultata razine enzima G17 u početnom nalazu i kontroli s nalazom histoloških parametara (atrofični gastritis – ATR i intestinalna metaplazija – IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca.	109
Tabela 18. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p120 (CagA) pozitivnih i negativnih bolesnika.....	111
Tabela 19. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p95 (VacA) pozitivnih i negativnih bolesnika.....	112
Tabela 20. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p30(OMP) pozitivnih i negativnih bolesnika.	113

Tabela 21. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p29 (UreA) pozitivnih i negativnih bolesnika.	115
Tabela 22. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antruma i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p26 pozitivnih i negativnih bolesnika.	117
Tabela 23. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju kod p19 (OMP)pozitivnih i negativnih bolesnika.	119
Tabela 24. Promjena stupnja/stadija histoloških parametara (atrofični gastritis - ATR ili intestinalna metaplazija - IM) antrum i korpusa želuca u petogodišnjem razdoblju prema endoskopskom nalazu.....	121
Tabela 25. Rezultati multivarijantne analize za predikciju nepovoljnog ishoda dinamike (DIN) patohistoloških parametara (atrofičnog gastritisa (ATR) i intestinalne metaplazije (IM) u antrumu (A) i korpusu (K) želuca. Analiza je bazirana na vrijednostima varijabli u početnom nalazu.....	124

11. POPIS KORIŠTENIH KRATICA

<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
ATR	atrofični gastritis
IM	intestinalna metaplazija
PG	pepsinogen
G	gastrin
A	antrum
K	korpus
PP	prvi pregled
Ko	kontrola
E	eradicirani
NE	ne- eradicirani
V	želučani ulkus
N	normalan nalaz
D	duodenalni ulkus
OLGA	<i>engl.</i> Operative Link on Gastritis Assessment
FDA	<i>engl.</i> Food and Drug administration
Ure B	laka podjedinica ureaze B
UreA	laka podjedinica ureaze A
OMP	vanjski membranski protein (<i>engl.</i> Outer Membrane Protein)
VacA	vakuolizirajući citotoksin
CagA	citotoksin povezani antigen

(*engl.* citotoksin associated antigene)

IQR interkvartilni raspon (*engl.* interQuartile Range)

SD standardna devijacija

12. LITERATURA

- ¹ Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984;1(8390):1311-1315.
- ² Blaser MJ. Gastric Campylobacter-like organisms, gastritis and peptic ulcer disease. *Gastroenterology*. 1987;93(2):371-383.
- ³ Blaser MJ. *Helicobacters* are indigenous to the human stomach: duodenal ulceration is due to changes in gastric microecology in the modern era. *Gut*. 1998;43:721-27.
- ⁴ Kalenić S, Plečko V, Presečki V i au.. *H. pylori*- bakterijske karakteristike. *Liječ Vjesn*. 2002;124(1):10-3.
- ⁵ International Agency for Research on Cancer. Schistosomes, liver flukes and *H. pylori*. IARC. 1994;61:177.
- ⁶ Strnad M, Presečki V, Babuš V, et al. Epidemiology of *H. pylori* infection. *Liječ Vjesn*. 2002;124(1):5-9.
- ⁷ Anonymus. Infection with *H. pylori*. In: *Shistosomes, Liver Flukes and H. pylori*. Edt. IARC (International Agency for Research on Cancer, World Health Organization) 1994;61:177-202.
- ⁸ Blaser MJ. Science, medicine, and future: *H. pylori* and gastric diseases. *Br Med J*. 1998;316:1507-10.
- ⁹ Howden CW. Clinical expressions of *H. pylori* infection. *Am J Med*. 1996;100:27-32.
- ¹⁰ Blaser MJ. Ecology of *H. pylori* in the human stomach. *J Clin Invest*. 1997;100(4):759-62.
- ¹¹ Presečki V, Katičić M, Marušić M i au. Serološka dijagnostika *H. pylori*. *Liječ Vjesn*. 2002;124(1):23-8.

-
- ¹² Skouloubris S, Thiberge JM, Labigne A, De Reuse H. The *H. pylori* Urel protein is not involved in urease activity but is essential for bacterial survival in vivo. *Infect Immun.* 1998;66:4517-21.
- ¹³ Chevalier C, Thiberge JM, Ferrero RL, Labigne A. Essential role of *H. pylori* gamma- glutamyltranspeptidase for colonization of the gastric mucosa of mice. *Mol Microbiol.* 1999;31:1359-72.
- ¹⁴ Alm RA, Bina J, Andrews BM, Doing P, Hanock RE, Trust TJ. Comparative genomics of *H. pylori*: analysis of the outer membrane protein families. *Infect Immunol.* 2000;68(7):4155-68.
- ¹⁵ Appelmelk BJ, Simoons- Smit I, Negrini R. Potential role of molecular mimicry between *H. pylori* lipopolysaccharide and host Lewis blood group antigens in autoimmunity. *Infect Immun.* 1996;64(4):2031-40.
- ¹⁶ Wirth HP, Yang M, Karita M, Blaser MJ. Expression of the human cell surface glycoconjugates Lewis x and Lewis y by *H. pylori* isolates is related to *cagA* status. *Infect Immun.* 1996;64(11):4598-605.
- ¹⁷ Wirth HP, Yang M, Peek RM, et al. *H. pylori* Lewis expression is related to the host Lewis phenotype. *Gastroenterology.* 1997;113(4):1091-8.
- ¹⁸ Ito M, Haruma K, Kaya S. Role of anti-parietal cell antibody in *H. pylori* associated atrophic gastritis: evaluation in a country of high prevalence of atrophic gastritis. *Scand J Gastroenterol.* 2002;37(3):287-93.
- ¹⁹ Appelmelk BJ, Faller G, Claeys D, et al. Bugs on trial: the case of *H. pylori* and autoimmunity. *Immunol Today.* 1998;19(7):296-9.
- ²⁰ Mobley HL, Island MD, Husinger RP. Molecular biology of microbial ureases. *Microbiol Rev.* 1995; 59(3):451-80.

-
- ²¹ Heusca M, Goodwin A, Bhagwansingh A, Hoffman P, Lingwood CA. Characterisation of an acidic -pH-inducible stress protein (Hsp70), a putative sulphatide binding adhesin, from *H. pylori*. *Infect Immun*. 1998;66:4061-7.
- ²² Naumann M, Wessler S, Bartsch C, et al. Activation of activator protein 1 and stress response kinases in epithelial cells colonized by *H. pylori* encoding the *cag* pathogenicity island. *J Biol Chem*. 1999;274(44):31655-62
- ²³ Meyer-ter-vehn T, Covacci A, Kist M, et al. *H. pylori* activates mitogen activated protein kinase cascades and induces expression of the proto-oncogene *c-fos* and *c-jun*. *J Biol Chem*. 2000;275(21):16064-72.
- ²⁴ Keates S, Hitti YS, Upton M, et al. *H. pylori* infection activates NF- κ B in gastric epithelial cells. *Gastroenterology*.1997;113:1099-109.
- ²⁵ Glocker E, Lange C, Covacci A, et al. Proteins encoded by the *cag*-PAI of *H. pylori* are required for NF- κ B activation. *Infect Immun*. 1998;66:2346-8.
- ²⁶ Foyrist-Ludwig A, Naumann M. P21-activated kinase 1 activates the nuclear factor kappa B (NF- κ B)-inducing kinase-I κ B kinases NF- κ B pathway and proinflammatory cytokines in *H. pylori* infection. *J Biol Chem*. 2000; 275(50):39779-85.
- ²⁷ Frost JA, Swantek JL, Stippec S. Stimulation of NF- κ B activity by multiple signalling pathways requires PAK1. *J Biol Chem*. 2000; 275(26):19693-99.
- ²⁸ Deguchi R, Takagi A, Kawata H. Association between CagA+ *H. pylori* infection and p53, BAX and TGF-B-RII gene mutations in gastric cancer patients. *Int J Cancer*. 2001;91(4):481-485.
- ²⁹ Danese S, Cremonini F, Armuzzi A. *H. pylori* CagA-strains affect oxygen free radicals generation by gastric mucosa. *Scand J Gastroenterol*. 2001;36(3):247-250.

-
- ³⁰ Soot DT, Elliott TB, Versoaget HW. Influence of *H. pylori* on reactive oxygen-induced gastric epithelial injury. *Carcinogenesis*. 2000;21(11):2091-5.
- ³¹ Peek RM Jr, Miller GG, Tham KT. Heightened inflammatory response and cytokine expression in vivo to CagA + *H. pylori* strains. *Lab Invest*. 1995;73(6):760-70.
- ³² Yamaoka Y, Kita M, Kodama T. *H. pylori* cagA gene and expression of cytokine messenger RNA in gastric mucosa. *Gastroenterology*. 1996;110:1744-52.
- ³³ Audibert C, Burucoa C, Janvier B, et al. Implication of the structure of the *H. pylori* cag pathogenicity island in induction of interleukin-8 secretion. *Infect Immun*. 2001;69(3):1625-1629.
- ³⁴ Audibert C, Janvier B, Grignon B. Correlation between IL-8 induction, cagA, vacA genotypes in 153 French *H. pylori* isolates. *Res Microbiol*. 2000; 151:1991-200.
- ³⁵ Luzzza F, Parrello T, Montleone G. Up-regulation of IL-17 is associated with bioactive IL-8 expression in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. *J Immunol*. 2000;165:5332-7.
- ³⁶ Schmausser B, Eck M, Greiner A. Mucosal humoral immune response to CagA shows a high prevalence in patients with gastric MALT-type lymphoma. *Virchows Arch*. 2000;436(2):115-8.
- ³⁷ Sozzi M, Valentini M, Figura N. Atrophic gastritis and intestinal metaplasia in *H. pylori* infection—the role of CagA status. *Am J Gastroent*. 1998;93(3):375-379.
- ³⁸ Luzzza F, Contaldo A, Imeneo M. Testing for serum IgG antibodies to *H. pylori* cytotoxin-associated protein defects with higher grades of gastric inflammation. *J Ped Gastroent Nutr*. 1999;29(3):302-307.

-
- ³⁹ Brenner H, Arndt V, Strumer T, et al. Individual and joint contribution of family history and *H. pylori* infection to the risk of gastric carcinoma. *Cancer*. 2000;88(2):274-9.
- ⁴⁰ Enrothy H, Kraaz W, Engstrand L, et al. *H. pylori* strain types and risk of gastric cancer: a case- control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000;9:981-5.
- ⁴¹ Maeda S, Yoshida H, Ogura K. Assessment of gastric carcinoma risk associated with *H. pylori* vary depending on the antigen used: CagA specific enzyme- linked immunoabsorbent assay (ELISA) versus commercially available *H. pylori* ELISAs. *Cancer*. 2000;88(7):1530-5.
- ⁴² Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, et al. Risk for gastric cancer in people with CagA positive and CagA negative *H. pylori* infection. *Gut*. 1997;40(3):297-301.
- ⁴³ Kupiers EJ, Perez-Perez GI, Meuwissen SGM, et al. *H. pylori* and atrophic gastritis: importance of the cagA status. *J Natl Cancer Inst*. 1995;87(23):1777-80.
- ⁴⁴ Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H. Infection with *H. pylori* strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res*. 1995;55(10):2111-15.
- ⁴⁵ Miehlke S, Kursch C, Agha AK, et al. The *H. pylori* vacA s1,m1 genotype and cagA is associated with gastric carcinoma in Germany. *Int J Cancer*. 2000; 87(3):322-7.
- ⁴⁶ Occhialini A, Marais A, Urdaci M. Composition and gene expression of the cag pathogenicity island in *H. pylori* strains isolated from gastric carcinoma and gastritis patients in Costa Rica. *Infect Immun* 2001; 69(3):1902-08.
- ⁴⁷ Maaros HI, Vorobjora T, Sipponen T. An 18-year follow-up study of chronic gastritis and *H. pylori* : association of CagA positivity with development of atrophy and activity of gastritis. *Scand J Gastroenterol*. 1999;34(9):864-9.

-
- ⁴⁸ Pan ZJ, van der Hulst RW, Tytgat GN, et al. Relation between *vacA* subtypes, cytotoxin activity, and disease in *H. pylori*-infected patients from Netherlands. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(6):1517-21.
- ⁴⁹ Van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, et al. Distinct variants of *H. pylori cagA* are associated with *vacA* subtypes. *J Clin Microbiol.* 1999;37(7):2306-11.
- ⁵⁰ Sadakane Y, Kusaba K, Nagasawa Z, et al. Prevalence and genetic diversity of *cagD*, *cagE* and *vacA* in *H. pylori* strains isolated from Japanese patients. *Scand J Gastroenterol.* 1999;34(10):981-6.
- ⁵¹ Slater E, Owen RJ, Williams M, et al. Conservation of the *cag* pathogenicity island of *H. pylori*: associations with vacuolating cytotoxin allele and IS605 diversity. *Gastroenterology.* 1999;85:2506-11.
- ⁵² Van Doorn NEM, Namavar F, van Doorn LJ, et al. Analysis of *vacA*, *cagA* and IS605 genotypes and those determined by PCR amplification of DNA between repetitive sequences of *H. pylori* strains isolated from patients with nonulcer dyspepsia or mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *J Clin Microbiol.* 1999;37(7):2348-9.
- ⁵³ Domingo D, Alarcon T, Prieto N, et al. *cagA* and *vacA* status of Spanish *H. pylori* clinical isolates. *J Clin Microbiol.* 1999;37(6):2113-4.
- ⁵⁴ Kikuchi S, Crabtree JE, Formann D, et al. Association between infection with *CagA*-positive or -negative strains of *H. pylori* and risk for gastric cancer in young adults. Research Group on prevention of Gastric Carcinoma among Young Adults. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(12):3455-9.

-
- ⁵⁵ Kidd M, Lastovica AJ, Atherton JC, et al. Heterogeneity in the *H. pylori vacA* and *cagA* genes: association with gastroduodenal disease in South Africa. *Gut*. 1999;45(4):499-502.
- ⁵⁶ Plummer, M, van Doorn, LJ, Franceschi, S, et al. *H. pylori* cytotoxin-associated genotype and gastric precancerous lesions. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99:1328-34.
- ⁵⁷ Leunk RD, Johnson PT, David BC. Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. *J Med Microbiol*. 1988; 26(2):93-99.
- ⁵⁸ Ferrero RI, Kansau IN, Labigne A. Virulence factors produced by *H. pylori*. In: Ernst PB, Michetti P, Smith PD, ed. *The immunobiology of H. pylori*. Lippincott-Raven, Philadelphia- New York 1997:29-45.
- ⁵⁹ Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *H. pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem*. 1995;270(30):17771-7.
- ⁶⁰ Van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R. Expanding allelic diversity of *H. pylori vacA*. *J Clin Microbiol*. 1998;36(9):2597-603.
- ⁶¹ Atherton JC, Peek RM, Tham KT. Clinical et pathological importance of heterogeneity in *vacA*, the vacuolizing cytotoxin gene of *H. pylori*. *Gastroenterology*. 1997;112(1):92-9.
- ⁶² Stephens JC, Fowell AM, Swann R. *H. pylori cagA* status, *vacA* genotypes and ulcer disease. *Gut*. 1996;39(1): W7.
- ⁶³ Queiroz DMM, Mendes EN, Rocha GA. Gastric carcinoma (GC) strains of *H. pylori* presents *vacA* sequence that allows differentiating them from duodenal ulcer (DU) and chronic gastritis (CG) strains. *Gut*. 1996;39(3):A66.

-
- ⁶⁴ Atherton JC, Tham KT, Peek RM. Specific *H. pylori vacA* genotypes are associated with presence of duodenal and gastric ulceration and degree of gastric inflammation. *Gut*. 1995;37(1):A3.
- ⁶⁵ Cover TL, Cao P, Murthy UK. Serum neutralizing antibody response to the vacuolating cytotoxin of *H. pylori*. *J Clin Invest*. 1992;90(3):913-8.
- ⁶⁶ Cover TL, Cao P, Lind CD. Correlation between vacuolating cytotoxin production by *H. pylori* isolates *in vitro* and *in vivo*. *Infect Immun*. 1993;61(12):5008-12.
- ⁶⁷ Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, et al. Relationship of *vacA* genotypes of *H. pylori* to *cagA* status, cytotoxin production, and clinical outcome. *Helicobacter*. 1998;3(4):241-53.
- ⁶⁸ Wang HJ, Kuo Ch, Yeh AA, et al. Vacuolating toxin production in clinical isolates of *H. pylori* with different *vacA* genotypes. *J Infect Dis*. 1998;178(1):207-12.
- ⁶⁹ Gunn MC, Stephens JC, Stewart JA, et al. The significance of *cagA* and *vacA* subtypes of *H. pylori* in the pathogenesis of inflammation and peptic ulceration. *J Clin Pathol*. 1998;51(10):761-4.
- ⁷⁰ Keates S, Keates AC, Warny M, et al. Differential activation of mitogen-activated protein kinases in AGS gastric epithelial cells by *cagA*⁺ and *cagA*⁻ *H. pylori*. *J Immunol*. 1999;163(10):5552-9.
- ⁷¹ Sheu BS, Sheish SC, Yang HB. Implications of *H. pylori* serological titre for the histological severity of antral gastritis. *Endoscopy*. 1997;29(1):27-30.
- ⁷² Yamamoto I, Fukuda Y, Mizuta T. Serum anti-*H. pylori* antibodies and gastritis. *J Clin Gastroenterol*. 1995;21(1):S164-S168.

-
- ⁷³ Werdmullerr BFM, Vanderputten ABMM, Veenendaal RA. Can screening for IgG antibodies against *H. pylori* be used in clinical practice- omit endoscopy in seropositive or seronegative patients. *Dig Dis Sci.* 1998;43(10):2296-2300.
- ⁷⁴ Raymond J, Sauvestre C, Kalach N. Immunoblotting and serology for diagnosis of *H. pylori* infection in children. *Ped Infect Dis JI.* 2000;19(2):118-121.
- ⁷⁵ Basso D, Stefani A, Brigato L. Serum antibodies anti *H. pylori* and anti-cagA: A comparison between four different assays. *J Clin Lab Anal.* 1999;13(4):194-8.
- ⁷⁶ Rautelin HIK, Oksanen AM, Karttunen RA. Association of CagA-positive infection with *H. pylori* antibodies of IgA class. *Ann Med.* 2000;32(9):652-656.
- ⁷⁷ Loffeld RJLF, Werdmuller BFM, Kusters JG. IgG antibody titres against *H. pylori* correlates with presence of cytotoxin associated gene A-positive H-pylori strains. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2000;28(2):139-141.
- ⁷⁸ Bodger K, Wyatt JI, Heatley RV. Serologic screening before endoscopy: The value of *H. pylori* serology, serum recognition of the CagA and VacA proteins and serum pepsinogen I, *Scand J Gastroenetrol.* 1999;34(9):856-863.
- ⁷⁹ Samloff IM. Pepsinogens I and II: purification from gastric mucosa and radioimmunoassay in serum. *Gastroenterology.* 1982;82(1):26-33-9.
- ⁸⁰ Samloff IM. Peptic ulcer: the many proteinases of aggression. *Gastroenterology.* 1989;96(2):586-95-9.
- ⁸¹ Samloff IM, Varis K, Ihamaki T, et al. Relationships among serum pepsinogen I, serum pepsinogen II, and gastric mucosal histology. A study in relatives of patients with pernicious anemia. *Gastroenterology.* 1982;83:204-11.

-
- ⁸² Yoshihara M, Sumii K, Haruma K, et al. Correlation of ratio of serum pepsinogen I and II with prevalence of gastric cancer and adenoma in Japanese subjects. *Am J Gastroenterol*. 1998;93:1090-11.
- ⁸³ Graham DY, Nurgalieva ZZ, El-Zimaity HM, et al. Noninvasive versus histological detection of gastric atrophy in a Hispanic population in north America. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(3):306-14.
- ⁸⁴ Oishi Y, Kiyohara Y, Kubo M, et al. The serum pepsinogen test as a predictor of gastric cancer: the Hisayama study. *Am J Epidemiol*. 2006; 163(7):629-37.
- ⁸⁵ Moran AP, Waldström T. Pathogenesis of *H. pylori*. *Current Opinion in Gastroenterology*. 1998;10(1):9-14
- ⁸⁶ Moran A. The products of *H. pylori* that induce inflammation. *Europ J Gastroentrol Hepatol*. 1998;10(1):3-8.
- ⁸⁷ Blaser MJ. *H. pylori*: balance an imbalance. *Europ J Gastroenterol Hepatol*. 1998;10(1):15-18.
- ⁸⁸ D'Elia MM, Andersen LP, Del Prete G. Inflammation and host response. *Current Opinion Gastroenterol*. 1998,14(1):15-19.
- ⁸⁹ Taylor DN, Blaser MJ. The epidemiology of *H. pylori* infection. *Epidemiol Rew*. 1991;13:42-59.
- ⁹⁰ Sobala GM, Crabtree J, Dixon MF. Acute *H. pylori* infection: clinical features, local and systemic immune response, gastric mucosal histology and gastric juice ascorbic acid concentrations. *Gut*. 1991;32(11):1415-8.
- ⁹¹ Genta RM, Hamner HW, Graham DY. Gastric lymphoid follicles in *H. pylori* infection: frequency, distribution, and response to triple therapy. *Hum Pathol* 1993; 24(6): 577-83.

-
- ⁹² Stolte M, Eidt S. Lymphoid follicles in antral mucosa: immune response to *Campylobacter pylori*? J Clin Pathol. 1989; 42: 1269-71.
- ⁹³ Correa P. *H. pylori* and gastric carcinogenesis. Am J Surg Pathol. 1995;19(1):37-49.
- ⁹⁴ Correa P, Haenzel W, Cuello C, et al. Gastric precancerous process in high risk population: Cross section studies. Cancer Res. 1990;50(15):4731-4736.
- ⁹⁵ Solacio E, Fiocca R, Luinetti O, et al. Intestinal and diffuse cancer arise in a different background of *H. pylori* gastritis through different gene involvement. Am J Surg Pathol .1996; 20(1):8-22.
- ⁹⁶ Delchier JC, Ebert M, Mafertheimer P. *H. pylori* in gastric lymphoma and carcinoma. Current Opin Gastroenterol. 1998;1: 41-45.
- ⁹⁷ Valle J, Kekki M, Sipponen P, et al. Long term course and consequences of *H. pylori* gastritis: result of a 32-year follow- up study. Scand J Gastroenterol. 1996;31(6):546-50.
- ⁹⁸ Sipponen M, Kekki M, Haapakoksi J, et al. Gastric cancer risk in chronic atrophic gastritis: statistical calculations of cross- sectional data. Int J Cancer. 1985;35(2)173-7.
- ⁹⁹ Klinkenberg-Knol EC, Nelis F, Dent J, et al. Long-term omeprazole treatment in resistant gastroesophageal reflux disease: efficacy, safety, and influence on gastric mucosa. Gastroenterology. 2000;118:661–9.
- ¹⁰⁰ Stolte M, Meining A, Schmitz JM, et al. Changes in *H. pylori*-induced gastritis in the antrum and corpus during 12 months of treatment with omeprazole and lansoprazole in patients with gastro-oesophageal reflux disease. Aliment Pharmacol Ther. 1998;12(3):247–53.

-
- ¹⁰¹ Schenk BE, Kuipers EJ, Nelis F, et al. Effect of *H. pylori* eradication on chronic gastritis during omeprazole therapy. *Gut*. 2000;46(5):615–21.
- ¹⁰² Lundell L, Miettinen P, Myrvold HE, et al. Lack of effect of acid suppression therapy on gastric atrophy. Nordic GERD Study Group. *Gastroenterology*. 1999;117(2):319-26.
- ¹⁰³ Freston JW. Long-term acid control and proton pump inhibitors: Interactions and safety issues in perspective. *Am J Gastroenterol*. 1997;92:51–7.
- ¹⁰⁴ Sahagami T, Dixon M, O' Rourke J. Atrophic gastric changes in both *Helicobacter felis* and *H. pylori*- infected mice are host-dependent and separate from antral gastritis. *Gut*. 1996;64:2031-40.
- ¹⁰⁵ Kuipers EJ, Lundell L, Klinkenberg-Knol EC. Atrophic gastritis and *H. pylori* infection in patients with reflux esophagitis treated with omeprazole or fundoplication. *N. Engl J Med*. 1996;334(16):1018-22.
- ¹⁰⁶ Shimoyama T, Fukuda S, Tanaka M, et al. CagA seropositivity associated with development of gastric cancer in Japanese population. *J Clin Pathol*. 1998;51(3):225-8.
- ¹⁰⁷ Matsukara N, Onda M, Kato S. Cytotoxin genes of *H. pylori* in chronic gastritis, gastroduodenal ulcer and gastric cancer: an age and gender matched case- control study. *Jpn J Cancer Res*. 1997;88(6):532-6.
- ¹⁰⁸ Fox JG, Correa P, Taylor WS. High prevalence and persistence of cytotoxin-positive *H. pylori* strains in a population with high prevalence of atrophic gastritis. *Am J Gastroenterol*. 1992.;87(9):1154-60.

-
- ¹⁰⁹ Beales IL, Crabtree JE, Sennesa D, et al. Antibodies to CagA protein are associated with gastric atrophy in *H. pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1998;8:645-9.
- ¹¹⁰ Ponzeto A, De Giuli M, Sanseverino P, et al. *H. pylori* and atrophic gastritis: importance of the cagA status. *J. Natl Cancer Inst*. 1996;88(7):465-6.
- ¹¹¹ Warburton VJ, Everett S, Mapstone NP, et al. Clinical and histological association of cagA and vacA genotypes in *H. pylori* gastritis. *J Clin Pathol*. 1998;51(1):55-61.
- ¹¹² Negrini A, Savio R, Poiesi C. Antigenic mimicry between *H. pylori* and gastric mucosa in the pathogenesis of body atrophic growth. *Gastroenterology*. 2000; 118(6):48-59.
- ¹¹³ Azuma T, Ito S, Sato F, et al. The role of the HLA-DQA1 gene in resistance to atrophic gastritis and gastric adenocarcinoma induced by *H. pylori* infection. *Cancer* 1998; 82:1013-8.
- ¹¹⁴ Stemmermann GN, Samloff IM, Nomura AM, Heilbrun LK. Serum pepsinogens I and II and stomach cancer. *Clin Chim Acta*. 1987; 163(2):191-8.
- ¹¹⁵ Sitas F, Smallwood R, Jewell D, et al. Serum anti-*Helicobacter-pylori* IgG antibodies and pepsinogen-A and pepsinogen-C as serological markers of chronic atrophic gastritis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1993; 2(2):119-23
- ¹¹⁶ Mossi S, Meyer-Wyss B, Renner EL, et al. Influence of *H. pylori*, sex, and age on serum gastrin and pepsinogen concentrations in subjects without symptoms and patients with duodenal ulcers. *Gut*. 1993; 34(6):752-6.
- ¹¹⁷ Palli D, Decarli A, Cipriani F, Sitas F, et al. *H. pylori* antibodies in areas of Italy at varying gastric cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1993; 2(1):37-40.

-
- ¹¹⁸ Ricci C, Vakil N, Rugge M, et al. Serological Markers for Gastric Atrophy in Asymptomatic Patients Infected with *H. pylori*. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99(10):1910-5.
- ¹¹⁹ Asaka M, Kimura T, Kudo M, et al. Relationship of *H. pylori* to serum pepsinogens in an asymptomatic Japanese population. *Gastroenterology*. 1992; 102(3):760-6.
- ¹²⁰ Jass JR, Filipe MI. The mucin profiles of normal gastric mucosa, intestinal metaplasia and its variants and gastric carcinoma. *Histochem J*. 1981;13(6):931-9.
- ¹²¹ Cassaro M, Rugge M, Gutierrez O, et al. Topographic patterns of intestinal metaplasia and gastric cancer. *Am J Gastroenterol*. 2000; 95: 1431-8.
- ¹²² Fiocca R, Villani L, Lunetti O. *Helicobacter* colonization and histopathological profile of chronic gastritis in patients with or without dyspepsia, mucosal erosion and peptic ulcer. A morphological approach to the study of ulcerogenesis in man. *Virchows Arch A Pathol Anat*. 1992;420(6):489-98.
- ¹²³ Cho C, Murthy UK, Linscheet WG, et al. Is intestinal metaplasia a consequence of *H. pylori* gastritis? *Gastroenterology*. 1994;106:A62.
- ¹²⁴ Van der Hulst R, Van der Ende A, Dekker F. Effect of *H. pylori* eradication on gastritis in relation to cagA: a prospective 1-year follow-up study. *Gastroenterology*. 1997;113(1):25-30.
- ¹²⁵ Watanabe T, Tada M, Nagai H. *H. pylori* infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterology*. 1998;115(3):642-8.
- ¹²⁶ Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer*. 2006;118(12):3030-44.

-
- ¹²⁷ Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. Acta Pathol Microbiol Scand 1965;64:31-49.
- ¹²⁸ Hansson LE, Engstrand L, Nyren O, et al. Prevalence of *H. pylori* infection in subtypes of gastric cancer. Gastroenterology. 1995; 109(3):885-8.
- ¹²⁹ Eslick GD, Lim LL, Byles JE, et al. Association of *H. pylori* infection with gastric carcinoma: A meta-analysis. Am J Gastroenterol. 1999; 94(9):2373-9.
- ¹³⁰ Parsonnet J, Vandersteen D, Goates J, et al. *H. pylori* infection in intestinal- and diffuse-type gastric adenocarcinomas. J Natl Cancer Inst. 1991; 83(9):640-3.
- ¹³¹ Ohata H, Kitauchi S, Yoshimura N, et al. Progression of chronic atrophic gastritis associated with *H. pylori* infection increases risk of gastric cancer. Int J Cancer. 2004;109(1):138-43.
- ¹³² Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process—first American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and prevention. Cancer Res. 1992;52(24):6735-40.
- ¹³³ EUROGAST Study Group. An international association between *H. pylori* infection and gastric cancer. Lancet. 1993;341(8857):1359-62.
- ¹³⁴ Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP. *H. pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med. 1991;325(16):1127-31.
- ¹³⁵ *Helicobacter* and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and *H. pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested with prospective cohorts. Gut. 2001;49(3):347-57.
- ¹³⁶ Forman D, Webb P, Parsonnet J. *H. pylori* and gastric cancer. Lancet. 1994;343(8891):243-244.

-
- ¹³⁷ El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*. 2000; 404(6776):398.
- ¹³⁸ El-Omar EM, Rabkin CS, Gammon MD, et al. Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*. 2003; 124(5):1193-201.
- ¹³⁹ Garza-Gonzalez E, Bosques-Padilla FJ, El-Omar, E, et al. Role of the polymorphic IL-1B, IL-1RN and TNF-A genes in distal gastric cancer in Mexico. *Int J Cancer*. 2005; 114(2):237-41.
- ¹⁴⁰ Furuta T, El-Omar EM, Xiao F, et al. Interleukin 1beta polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology*. 2002; 123:92-9.
- ¹⁴¹ Lu W, Pan K, Zhang L, et al. Genetic polymorphisms of interleukin (IL)-1B, IL-1RN, IL-8, IL-10 and tumour necrosis factor alpha and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Carcinogenesis*. 2005; 26:631-7.
- ¹⁴² Rad R, Dossumbekova A, Neu B, et al. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *H. pylori* infection. *Gut*. 2004; 53(8):1082-9.
- ¹⁴³ Craanen ME, Dekker W, Blok P, et al. Intestinal metaplasia and *H. pylori*: An endoscopic bioptic study of the gastric antrum. *Gut*. 1992; 33(1):16-20.
- ¹⁴⁴ Kuipers EJ, Uytterlinde AM, Pena, AS, et al. Long-term sequelae of *H. pylori* gastritis. *Lancet* 1995; 345(8964):1525-8.
- ¹⁴⁵ Stolte M. A critical look at the Sydney classification of gastritis. *Endoscopy*. 1991; 23 (85):289-90.

-
- ¹⁴⁶ Huang JQ, Sridhar S, Chen Y, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between *H. pylori* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology*. 1998; 114:1169-80.
- ¹⁴⁷ Craanen ME, Blok P, Dekker W, Tytgat GN. *H. pylori* and early gastric cancer. *Gut*. 1994; 35:1372.
- ¹⁴⁸ Holcombe C. *H. pylori*: The African enigma. *Gut*. 1992; 33(4):429-31.
- ¹⁴⁹ Megraud F, Brassens-Rabbé MP, Denis F, et al. Seroepidemiology of *Campylobacter pylori* infection in various populations. *J Clin Microbiol* 1989; 27:18;703.
- ¹⁵⁰ Stemmermann GN, Nomura AMY, Chyou PH, Hankin J. Impact of diet and smoking on risk of developing intestinal metaplasia of the stomach. *Dig Dis Sci*. 1990; 35(4):433-8.
- ¹⁵¹ La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Gentile A. Family history and risk of stomach and colorectal cancer. *Cancer*. 1992; 70(1):50-5.
- ¹⁵² Inoue M, Tajima K, Yamamura Y, et al. Family history and subsite of gastric cancer: Data from a case-referent study in Japan. *Int J Cancer*. 1998; 76(6):801-5.
- ¹⁵³ El-Omar EM, Oien K, Murray LS, et al. Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: critical role of *H. pylori*. *Gastroenterology*. 2000; 118:22-9.
- ¹⁵⁴ Leung WK, Wu MS, Kakugawa Y, et al. Screening for gastric cancer in Asia: current evidence and practice. *Lancet Oncol*. 2008; 9(3):279-87.
- ¹⁵⁵ Fock KM, Talley N, Moayyedi P, et al. Asia-Pacific consensus guidelines on gastric cancer prevention. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008; 23(3):351-65.

-
- ¹⁵⁶ Mizoue T, Yoshimura T, Tokui N, et al. Prospective study of screening for stomach cancer in Japan. *Int J Cancer*. 2003; 106:103-7.
- ¹⁵⁷ Kunisaki C, Ishino J, Nakajima S, et al. Outcomes of mass screening for gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2006; 13(2):221-8.
- ¹⁵⁸ Uemura M, Mukai T, Okamoto S, et al. Effect of *H. pylori* eradication on subsequent development of cancer after endoscopic resection of early gastric cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1997; 6(8):639-42.
- ¹⁵⁹ Saito K, Arai K, Mori M, et al. Effect of *H. pylori* eradication on malignant transformation of gastric adenoma. *Gastrointest Endosc*. 2000; 52(1):27-32.
- ¹⁶⁰ Price AB. The Sydney system: histological division. *J Gastroenterol Hepatol*. 1991; 6: 209-22.
- ¹⁶¹ Misiewicz JJ, Tytgat GNJ, Goodwin CS, et al. The Sydney system: A new classification of gastritis. Summary Working Party Reports, 9th World Congress of Gastroenterology, Sydney 1990: 1-10.
- ¹⁶² Correa P, Yardley JH. Grading and classification of chronic gastritis: one American response to the Sydney system. *Gastroenterology*. 1992;102(1):355-9.
- ¹⁶³ Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The update Sydney System. International Workshop on the Histopathology of gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol*. 1996;20(10):1161-81.
- ¹⁶⁴ Genta RM. Atrophy, acid suppression and *H. pylori* infection: a tale of two studies. *Europ J Gastroenterol Hepatol*. 1999;11(2):29-33.
- ¹⁶⁵ Stolte M, Stadelmann O, Bethke B, Burkard G. Relationship between the degree of *H. pylori* colonisation and the degree and activity of gastritis, surface epithelial degeneration and mucus secretion. *Z Gastroenterol*. 1998;33:89-93.

-
- ¹⁶⁶ Schwere MJ, Baczako KB. Expression of cytokeratins typical for ductal and squamous differentiation in human stomach: an immunohistochemical study of normal foveolar epithelium, *H. pylori* gastritis and intestinal metaplasia. *Histopathology*. 1996;29(2):131-137.
- ¹⁶⁷ Rugge M, Correa P, Di Mario F, et al. OLGA staging for gastritis: a tutorial. *Dig Liver Dis*. 2008;40(8):650-8.
- ¹⁶⁸ Rugge M, Meggio A, Pennelli G, et al. Gastritis staging in clinical practice: the OLGA staging system. *Gut*. 2007;56(5):631-6.
- ¹⁶⁹ deVries AC, Haringsma J, Kuipers EJ. The detection, surveillance and treatment of premalignant gastric lesions related to *H. pylori* infection. *Helicobacter*. 2007;12:1-15.
- ¹⁷⁰ Westerveld BD, Pals G, Lamers CB, et al. Clinical significance of pepsinogen A isozymogens, serum pepsinogen A and C levels, and serum gastrin levels. *Cancer*. 1987;59(5):952-8.
- ¹⁷¹ Kekki M, Samloff IM, Varis K, et al. Serum pepsinogen I and serum gastrin in the screening of severe atrophic corpus gastritis. *Scand J Gastroenterol*. 1991;186:109-16.
- ¹⁷² Borch K, Axelsson CK, Halgreen H, et al. The ratio of pepsinogen A to pepsinogen C: a sensitive test for atrophic gastritis. *Scand J Gastroenterol*. 1989 Sep;24(7):870-6.
- ¹⁷³ Plebani M, Basso D, Cassaro M, et al. *Helicobacter pylori* serology in patients with chronic gastritis. *Am J Gastroenterol*. 1996;91(5):954-8.
- ¹⁷⁴ Mårdh E, Mårdh S, Mårdh B, et al. Diagnosis of gastritis by means of a combination of serological analyses. *Clin Chim Acta*. 2002;320(1-2):17-27.

-
- ¹⁷⁵ Plebani M, Di Mario F, Stanghellini V, et al. Serological tests to monitor treatment of *Helicobacter pylori*. Lancet 1992;340(8810):51-2.
- ¹⁷⁶ Wagner S, Haruma K, Gladziwa U, et al. *Helicobacter pylori* infection and serum pepsinogen A, pepsinogen C, and gastrin in gastritis and peptic ulcer: significance of inflammation and effect of bacterial eradication. Am J Gastroenterol. 1994;89(8):1211-8.
- ¹⁷⁷ Pérez-Paramo M, Albillos A, Calleja JL, et al. Changes in gastrin and serum pepsinogens in monitoring of *Helicobacter pylori* response to therapy. Dig Dis Sci. 1997;42(8):1734-40.
- ¹⁷⁸ Germana B, Di Mario F, Cavallaro LG, et al. Clinical usefulness of serum pepsinogens I and II, gastrin-17 and anti-*Helicobacter pylori* antibodies in the management of dyspeptic patients in primary care. Dig Liver Dis. 2005;37(7):501-8.
- ¹⁷⁹ Vaananen H, Vuhkonen M, Helske T, et al. Non-endoscopic diagnosis of atrophic gastritis with blood test. Correlation between gastric histology and serum levels of gastrin-17 and pepsinogen I: multicentric study. Europ J Gastro Hepato. 2003;15:885-91.
- ¹⁸⁰ Miki K, Ichinose M, Ishikawa KB, et al. Clinical application of serum pepsinogen I and II levels for mass screening to detect gastric cancer. Jpn J Cancer Res. 1993;10:1086-90.
- ¹⁸¹ Bodger K, Wyatt JI, Heatly RV. Variation in serum pepsinogen with severity and topography of *H. pylori* associated chronic gastritis in dyspeptic patients referred for endoscopy. Helicobacter .2001;6(3):216-24.

-
- ¹⁸² Kawai T, Kawakami K, Kataoka M, et al. Correlation of serum pepsinogen with histological atrophy following successful *H. pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;22 (2):23-30.
- ¹⁸³ Urita Y, Hike K, Torii N, et al. Serum pepsinogen as a predictor of the topography of intestinal metaplasia in patients with atrophic gastritis. *Dig Dis Sci.* 2004;49(5):795-801.
- ¹⁸⁴ Valle Muñoz J, Artaza Varasa T, López Pardo R, et al. Serological diagnosis of atrophic gastritis with a combination of pepsinogen I and II, gastrin-17 and anti-*H. pylori* antibodies. *Gastroenterol Hepatol.* 2007;30(10):567-71.
- ¹⁸⁵ Watabe H, Mitsushima T, Yamaji Y, et al. Predicting the development of gastric cancer from combining *H. pylori* antibodies and serum pepsinogen status: a prospective endoscopic cohort study. *Gut.* 2005;54(6):764-8.
- ¹⁸⁶ Finery MB. Gastric intestinal metaplasia on routine endoscopic biopsy. *Gastroenterology.* 2003;125:586-8.
- ¹⁸⁷ Whiting JL, Sigurdsson A, Rowlands DC, et al. The long term results of endoscopic surveillance of premalignant gastric lesions. *Gut.* 2002; 50(3):378.
- ¹⁸⁸ Hirota WK, Zuckerman MJ, Adler DG, et al. ASGE guideline: the role of endoscopy in the surveillance of premalignant conditions of the upper GI tract. *Gastrointest Endosc.* 2006;63(4):570-80.
- ¹⁸⁹ Lynch DA, Mapstone NP, Clarke AM, et al. Cell proliferation in *H. pylori* associated gastritis and the effect of eradication therapy. *Gut.* 1995;36(3):346-50.
- ¹⁹⁰ Ohkusa T, Takashimizu I, Fujiki K, et al. Disappearance of hyperplastic polyps in the stomach after eradication of *H. pylori*. A randomized, clinical trial. *Ann Intern Med.* 1998;129(9):712-5.

-
- ¹⁹¹ Ohkusa, T, Fujiki K, Takashimizu I, et al. Improvement in atrophic gastritis and intestinal metaplasia in patients in whom *H. pylori* was eradicated. *Ann Intern Med.* 2001;134(5):380-6.
- ¹⁹² Watari J, Das KK, Amenta PS, et al. Effect of eradication of *H. pylori* on the histology and cellular phenotype of gastric intestinal metaplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008;6(4):409-17.
- ¹⁹³ Wong BC, Lam SK, Wong WM, et al. *H. pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2004;291(12):187-94.
- ¹⁹⁴ You WC, Brown LM, Zhang L, et al. Randomized double-blind factorial trial of three treatments to reduce the prevalence of precancerous gastric lesions. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(14):974-83.
- ¹⁹⁵ Forbes GM, Warren JR, Glaser ME, et al. Long-term follow-up of gastric histology after *H. pylori* eradication. *J Gastroenterol Hepatol.* 1996;11(7):670-3.
- ¹⁹⁶ Annibale B, Aprile MR, D'ambra G, et al. Cure of *H. pylori* infection in atrophic body gastritis patients does not improve mucosal atrophy but reduces hypergastrinemia and its related effects on body ECL-cell hyperplasia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000;14(5):625-34.
- ¹⁹⁷ Kokkola A, Sipponen P, Rautelin H, et al. The effect of *H. pylori* eradication on the natural course of atrophic gastritis with dysplasia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002; 16(3):515-20.
- ¹⁹⁸ Ito M, Haruma K, Kamada T, et al. *H. pylori* eradication therapy improves atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a 5-year prospective study of patients with atrophic gastritis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16(8):1449-56.

-
- ¹⁹⁹ Correa P, Fontham ET, Bravo JC, et al. Chemoprevention of gastric dysplasia: randomized trial of antioxidant supplements and anti-*H. pylori* therapy. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:1881-8.
- ²⁰⁰ Mera R, Fontham ET, Bravo LE, et al. Long term follow up of patients treated for *H. pylori* infection. *Gut.* 2005;54(11):1536-40.
- ²⁰¹ Kuipers EJ, Nelis GF, Klinkenberg-Knol EC, et al. Cure of *H. pylori* infection in patients with reflux oesophagitis treated with long term omeprazole reverses gastritis without exacerbation of reflux disease: results of a randomised controlled trial. *Gut.* 2004;53(1):12-20.
- ²⁰² Ley C, Mohar A, Guarner J, et al. *H. pylori* eradication and gastric preneoplastic conditions: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13(1):4-10.
- ²⁰³ Sung JY, Lin SR, Ching JY, et al. Atrophy and intestinal metaplasia one year after cure of *H. pylori* infection: a prospective, randomized study. *Gastroenterology.* 2000;119:187-94.
- ²⁰⁴ Take S, Mizuno M, Ishiki K, et al. The effect of eradicating *Helicobacter pylori* on the development of gastric cancer in patients with peptic ulcer disease. *Am J Gastroenterol.* 2005;100(5):1037-42
- ²⁰⁵ Cai X, Carlson J, Stoicov C, et al. *Helicobacter felis* eradication restores normal architecture and inhibits gastric cancer progression in C57BL/6 mice. *Gastroenterology.* 2005;128(7):1937-52.
- ²⁰⁶ Romero-Gallo J, Harris EJ, Krishna U, et al. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on gastric carcinogenesis. *Lab Invest.* 2008;88(3):328-36.

-
- ²⁰⁷ Hojo M, Miwa H, Ohkusa T, et al. Alteration of histological gastritis after cure of *H. pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16(11):1923-32.
- ²⁰⁸ Fuccio L, Zagari RM, Minardi ME, et al. Systematic review: *H. pylori* eradication for the prevention of gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;15;25(2):133-41.
- ²⁰⁹ Stolte M, Vieth M. Elevated risk for gastric adenocarcinoma can be predicted from histomorphology. *World J Gastroenterol.* 2006;12(38): 6109-6114.
- ²¹⁰ Gray SF, Wyatt JI, Rathbone BJ. Simplified techniques for identifying *Campylobacter pyloridis*. *J Clin Pathol.* 1986;39:1279-80.
- ²¹¹ www.euroimmun.de
- ²¹² Barthel JS, Everett ED. Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: The "gold standard" and alternatives. *Rev Infect Dis.* 1990;12(2):107-14.
- ²¹³ Kupiers EJ, Schenk BE, Meuwissen SGM. *H. pylori*: who is positive and who not? *Europ J Gastroent Hepato.* 1995;7:533-6.
- ²¹⁴ www.biohit.com
- ²¹⁵ Malfertheiner P, Meagraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *H. pylori* infection The Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16:167-180.
- ²¹⁶ Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology.* 2007;133(2):659-72.
- ²¹⁷ Ley C, Mohar A, Guarner J, et al. Screening markers for chronic atrophic gastritis in Chiapas, Mexico. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10(2):107-12.
- ²¹⁸ Mikki K. Gastric cancer screening using the serum pepsinogen test method. *Gastric Cancer.* 2006;9(4):245–253.

²¹⁹ Kato I, Miki K, Muñoz N, et al. Determinants of plasma pepsinogen levels in a population at high risk for stomach cancer in Venezuela. *Int J Cancer*. 1995;62(5):512-8.

²²⁰ Cao Q, Ran ZH, Xiao SD. Screening of atrophic gastritis and gastric cancer by serum pepsinogen, gastrin-17 and *Helicobacter pylori* immunoglobulin G antibodies. *J Dig Dis*. 2007;8(1):15-22.

²²¹ Dixon MF. Prospects for intervention in gastric carcinogenesis: reversibility of gastric atrophy and intestinal metaplasia. *Gut*. 2001;49(1):2-4.

SAŽETAK

Uvod: Dosadašnja istraživanja nisu odgovorila na pitanje reverzibilnosti *H. pylori* pozitivnog atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije sluznice želuca te uloge eradikacijske terapije i čimbenika virulencije.

Cilj: utvrditi utjecaj uspješnosti eradikacijske terapije i čimbenika virulencije *H. pylori* na dinamičnost premalignih promjena: atrofije i intestinalne metaplazije u 5 godišnjem vremenskom intervalu. Usporediti rezultate serološkog određivanja razine enzima PGI, PGII, PGI/II i G17 i nalaza pojedinih stupnjeva patohistoloških promjena.

Materijali i metode: U istraživanje je uključeno 186 bolesnika s infekcijom bakterijom *H. pylori* i u početnom histološkom nalazu prisutnim atrofičnim gastritisom i/ili intestinalnom metaplazijom na jednoj ili obje od anatomskih lokalizacija u želucu. Biopsati želuca analizirani su (prema Sydney i OLGA sistemu) na početnom i kontrolnom (u 5. godina) pregledu. Kod oba pregleda ELISA metodom određena razina enzima PGI, PGII i G17 u serumu. Western blot metodom određena je prisutnost antitijela na p120 (CagA), p95(VacA), p 29 (OMP), p26 i p19 (OMP). Rezultati uspjeha eradikacijske terapije testirani histološki na kontroli u 5-oj godini.

Rezultati: Statistički značajna dinamičnost rezultata u petogodišnjem intervalu utvrđena je za obje ispitivane histološke varijable i na obje anatomske lokalizacije te razinu svih ispitivanih enzima. Kod bolesnika s prisutnim patohistološkim parametrom u početnom nalazu utvrđena je statistički značajna regresija stupnja ili stadija u većine (do 98%) bolesnika. U manje od 17% bolesnika prisutna je progresija stupnja ili stadija histološkog parametra. Neuspjeh eradikacijske terapije značajni je prediktor progresije stupnja ili stadija atrofičnog gastritisa korpusa i antruma te intestinalne metaplazije (prema OLGA sistemu). P 120 (cagA) i p 26 serološki negativitet

prediktori su progresije atrofičnog gastritisa korpusa te stadija intestinalne metaplazije. Razina enzima G17 statistički značajno korelira stupnjevima intestinalne metaplazije u korpusu želuca.

Zaključak: ovisno o bazičnom nalazu, uspješna eradikacija *H. pylori* u značajnog dijela bolesnika s atrofičnim gastritisom i intestinalnom metaplazijom dovodi do regresije stupnjeva ili nepromjenjivosti prisutnih promjena. Neuspjeh eradikacijske terapije prediktor je progresije histoloških parametara. Razina enzima G17 u prvom pregledu pozitivno korelira s stupnjevima intestinalne metaplazije u korpusu želuca.

Role of *H. pylori* eradication therapy success and virulence antigens on dynamics of gastric mucosa premalignant changes

Tajana Filipec Kanižaj

Zagreb, 2009

Introduction: Up till now there is no answer on reversibility of *H. pylori* positive atrophic gastritis and intestinal metaplasia regarding eradication therapy success and presence of virulence antigens.

Aim: of the study was to investigate the role of eradication therapy success and presence of virulence antigens on dynamics of premalignant histological changes (atrophic gastritis and intestinal metaplasia) in 5 year period. Additionally, to correlate results of PGI, PGII, PGI/II and G17 enzyme levels with different grades of histological parameters.

Materials and methods: study was performed on 186 *H. pylori* positive patients with atrophic gastritis and/or intestinal metaplasia in basic biptic specimens of antrum or corpus. Specimens were analyzed according to Sydney and OLGA protocol in basic and control (5th year). On both examinations serum levels of enzymes was recorded by ELISA method. Western blot was used in order to detect antigens to p120 (CagA), p95 (VacA), p 29 (OMP), p26 and p19 (OMP). All patients received eradication therapy and success was evaluated according to 5th year histological finding.

Results: all tested histological parameters revealed statistically significant changes in grade and stage on both anatomical localizations. The same is observed for levels of all tested enzymes. Most (up to 98%) basically positive patients to histological

parameters showed significant regression in grade and stage of all parameters. In less than 17% of patients progression of grade or stage of histological parameters was observed. Unsuccessful eradication therapy was predictor of progression of stage and grade of corpus atrophic gastritis and stage of intestinal metaplasia. Negative results to p120 (CagA) and p26 were predictors of corpus atrophic gastritis grade and intestinal metaplasia stage progression respectively. Level of G17 enzyme was positively correlated with higher grades of corpus intestinal metaplasia in basic examination.

Conclusions: depending on basic finding, successful *H. pylori* eradication is related with regression or no change of grade or stage of atrophic gastritis and intestinal metaplasia. Unsuccessful eradication therapy was predictor of progression of stage and grade of histological parameters. Level of G17 enzyme was positively correlated with higher grades of corpus intestinal metaplasia in basic examination.

ŽIVOTOPIS

Rođena sam 21. rujna 1972.g. godine u Zagrebu. Osnovnu i srednju (MIOC) školu završila sam u Zagrebu. 1991. godine upisala sam studij medicine na Medicinskom Fakultetu u Zagrebu. Studij sam završila 1997. godine. Nakon završenog jednogodišnjeg staža zaposlila sam se kao znanstveni novak- asistent i specijalizant Interne medicine na Medicinskom Fakultetu u Zagrebu gdje i sada radim s radnim mjestom u Kliničkoj bolnici Merkur. Znanstvenim radom bavim se u sklopu Projekta Medicinskog Fakulteta i Ministarstva znanosti i tehnologije 'Projekt broj 108-0000000-3114: " *Helicobacter pylori* infekcija – evolucija bolesti i novi terapijski postupci", ranije 0108126: "Evolucija promjena vezanih uz *Helicobacter pylori* infekciju", 0108104: "Epidemiologija, dijagnostika i terapija s *Helicobacter pylori* povezanih bolesti" pod vodstvom Prof. dr. sc. Miroslave Katičić. Poslijediplomski studij na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu, polje Biologije, smjer Fiziologija i imunobiologija završila sam 2004. godine obranom Magistarskog rada pod naslovom "Pouzdanost metoda "Western blot" i PCR u otkrivanju gena virulencije *cagA* i *vacA* bakterije *Helicobacter pylori*" (Mentor: Prof. dr. sc. Vladimir Presečki). 2005.g. položila sam specijalistički ispit iz Interne medicine. 2008. godine kao stipendist hrvatskog i njemačkog gastroenterološkog društva boravila sam na jednomjesečnoj edukaciji na Odjelu gastroneurologije i hepatologije u Medizinische Hochschule Hannover, Njemačka (mentor Prof. dr. Michael Manns). Autor i koautor sam više znanstvenih i stručnih radova iz područja istraživanja *Helicobacter pylori* infekcije. Udata sam i majka jednog djeteta.