



MD 1490 Y 2021.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1490** (13) **Y**
(51) Int.Cl: *A61B 10/00* (2006.01)
G01N 33/49 (2006.01)
G01N 33/573 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE DE SCURTĂ DURATĂ

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului

(21) Nr. depozit: s 2020 0115
(22) Data depozit: 2020.09.21

(45) Data publicării hotărârii de
acordare a brevetului:
2021.01.31, BOPI nr. 1/2021

(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE
TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(72) Inventatori: BOTEZATU Adriana, MD; ISTRATE Viorel, MD; BARBA Doina, MD;
ȚURCANU Gheorghe, MD; LUCA Ecaterina, MD; URSU Cătălina, MD;
ZLATOVCENA Alla, MD; ANTONOVA Natalia, MD; BODRUG Nicolae, MD

(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE
TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(74) Mandatar autorizat: COȘNEANU Elena

(54) Metodă de diagnostic al stărilor precanceroase gastrice morfologic schimbate

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la medicină, în special la gastrologie și poate fi utilizată pentru diagnosticul stărilor precanceroase gastrice morfologic schimbate.

Esența invenției constă în determinarea în serul sangvin al pacientului a valorilor cantitative ale pepsinogenului I (PG-I), pepsinogenului II (PG-II) și raportului dintre

2
valoarea cantitativă a pepsinogenului I și pepsinogenului II, în cazul în care valoarea cantitativă a PG-I este de 64,10...38,37 μg/L, iar a raportului PG-I/PG-II este de 4,59...2,55, se diagnostichează prezența de stare precanceroasă gastrică morfologic schimbată.

Revendicări: 1

MD 1490 Y 2021.01.31

(54) Method for diagnosing morphologically altered precancerous conditions of the stomach

(57) Abstract:

1
The invention relates to medicine, in particular to gastrology and can be used for diagnosing morphologically altered precancerous conditions of the stomach.

Summary of the invention consists in determining in the patient's blood serum the quantitative values of pepsinogen I (PG-I), pepsinogen II (PG-II) and the ratio between the

2
quantitative value of pepsinogen I and pepsinogen II (PG-I / PG-II), if the quantitative value of PG-I is 64.10...38.37 $\mu\text{g/L}$, and the ratio PG-I/PG-II is 4.59...2.55, the presence of morphologically altered precancerous condition of the stomach is diagnosed.

Claims: 1

(54) Метод диагностики морфологически измененных предраковых состояний желудка

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к медицине, в частности к гастрологии, и может быть использовано для диагностики морфологически измененных предраковых состояний желудка.

Сущность изобретения состоит в определении в сыворотке крови пациента количественных значений пепсиногена I (PG-I), пепсиногена II (PG-II) и соотношения между количественным

2
значением пепсиногена I и пепсиногена II (PG-I/PG-II), в случае, если количественное значение PG-I составляет 64,10...38,37 мкг/л, а соотношение PG-I/PG-II составляет 4,59...2,55, диагностируют наличие морфологически измененного предракового состояния желудка.

П. формулы: 1

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

- 5 Invenția se referă la medicină, în special la gastrologie și poate fi utilizată pentru diagnosticul stărilor precanceroase gastrice morfologic schimbate.
- La etapa actuală, cele mai de bază stări precanceroase se consideră: gastrita cronică atrofică și infecția *Helicobacter pylori*, iar stările precanceroase morfologic schimbate se consideră metaplazia intestinală (MIG) și displazia epitelului mucoasei gastrice (DEMG) (Аруин Л. И., Капуллер Л. Л., Исаков В. А. Морфологическая диагностика желудка и кишечника. Москва, Триада-Х, 1998, p. 269-300).
- 10 Din 2003 în practica medicală este introdus panoul serologic Gastro-Panel®, care determină 4 biomarkeri în serul sangvin pepsinogen I (PG-I), pepsinogen II (PG-II), gastrina-17 (G-17) și *Helicobacter pylori* IgG (HP-IgG), și este conceput pentru a oferi informații despre structura și funcția mucoasei gastrice. Pe lângă faptul că indică caracterul funcțional sau structural al leziunii, Gastro-Panel® este capabil să determine localizarea acestuia – antrum sau corpul gastric (Syrjanen K. Serological Biomarker Panel (GastroPanel®): A Test for Non-Invasive Diagnosis of Dyspeptic Symptoms and for Comprehensive Detection of Helicobacter pylori Infection. Biomark. J. 2017, vol. 3, no 1; Cha J. H., Jang J. S. Clinical correlation between serum pepsinogen level and gastric atrophy in gastric neoplasm. Korean J. Intern. Med., 2018). Aceasta este o metodă neinvazivă și utilă pentru diagnosticarea gastritei cronice atrofice, cu capacitatea de a diagnostica și a localiza diferite grade de atrofie. Mai multe studii au confirmat utilitatea testului Gastro-Panel® ca ”biopsie serologică” în evaluarea neinvazivă a gastritei cronice atrofice la pacienții cu dispepsie, iar procedurile sau deciziile terapeutice sunt luate în baza acestor rezultate
- 15 (Wang X., Ling L., Li S., Qin G., Cui W., Li X. et al. The Diagnostic Value of Gastrin-17 Detection in Atrophic Gastritis: A Meta-Analysis. Medicine (Baltimore), 2016, vol. 95(18), e3599; Korstanje A., den Hartog G., Biemond I., Lamers C. Chapter III. The serological gastric biopsy: a non-endoscopic diagnostic approach in management of the dyspeptic patient. Scand J Gastroenterol., 2002, no 37, Suppl. 236, p. 37-45; Pasechnikov V.D., Chukov S.Z., Kotelevets S.M., Mostovov A.N., Mernova V.P., Polyakova M.B. Invasive and non-invasive diagnosis of Helicobacter pylori-associated atrophic gastritis: a comparative study. Scand J Gastroenterol., 2005, no 40(3), p. 297-301; Syrjanen K. Serum Biomarker Panel (GastroPanel®) and Slow-Release L-cysteine (Acetium® Capsule): Rationale for the Primary Prevention of Gastric Cancer. EC Gastroenterology and Digestive System., 2017, no 3(6), p. 172-192). Concomitent cu atrofierea glandelor mucoasei din antrum și/sau corpul gastric, nivelurile de PG-I și PG-II se modifică corespunzător și rezultă într-o scădere a PGR (Dong Z., Zhang X., Chen X., Zhang J. Significance of Serological Gastric Biopsy in Different Gastric Mucosal Lesions: an Observational Study. Clin Lab., 2019, no 65(12); Looor A., Dumitrașcu D. Helicobacter pylori Infection, Gastric Cancer and Gastropanel. Rom. J. Intern. Med., 2016, no 54(3), p. 151-156). A fost constatat că PGR este strâns corelat cu gastrita cronică atrofică histologică, iar PGR<3,0 este considerată o valoare optimă pentru diagnostic cu sensibilitate (71%), specificitate (86%) și precizie de detectare a atrofiei mucoasei gastrice ridicate (85%) (Syrjanen K., Eronen K. Serological Testing in Management of Dyspeptic Patients and in Screening of Gastric Cancer Risks. J. Gastrointest. Disord. Liver Func., 2016, no 2(2), p. 84-88). Nivelele de PG-I și PGR scad semnificativ la pacienții cu gastrită cronică atrofică și concomitent cu extinderea gastrică, determinate histologic (Mescoli C., Gallo Lopez A., Taxa Rojas L., Jove Oblitas W., Fassan M., Rugge M. Gastritis staging as a clinical priority. Eur J Gastroenterol Hepatol., 2018, no 30(2), p. 125-129).
- 20 Este cunoscută metoda de diagnostic al stărilor precanceroase gastrice prin utilizarea panoului serologic Gastro-Panel, unde determinarea pepsinogenului seric (PG) este cel mai util test neinvaziv în explorarea mucoasei gastrice (atrofie versus non-atrofie). Raportul PG-I/PG-II (PGR) se poate asocia ca și biomarker al neoplaziilor gastrice. O listă întreagă de teste serologice (Gastro-Panel), care includ nivelul seric al pepsinogenului seric (PG-I și PG-II), gastrina-17 (G-17) și anticorpii anti-Hp au fost recent propuse în calitate de teste serologice la pacienții cu dispepsie. În cazul populațiilor cu o prevalență scăzută a atrofiei gastrice, valoarea predictivă negativă a GastroPanel în identificarea gastritei atrofice a fost de 97%. Consensul Global de la Kyoto a stabilit în unanimitate următoarea declarație: „testele serologice (pepsinogenul I și pepsinogenul II, precum și anticorpii anti-Hp) sunt utile pentru identificarea pacienților cu risc crescut pentru cancerul gastric” [1].
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55

Dezavantajele metodei cunoscute constau în aceea că datele nu sunt informative pentru stările precanceroase morfologic schimbate, ceea ce necesită unele investigații suplimentare și invazive pentru diagnosticul precoce al maladiilor menționate.

5 Este cunoscută metoda de diagnostic al stărilor precanceroase gastrice morfologic schimbate cu utilizarea investigației endoscopice prin magnificare și cromoendoscopie. Aceasta s-a realizat prin efectuarea anesteziei de scurtă durată cu Propofol, sub supravegherea medicului anesteziat. Endoscopia cu magnificare este o investigație, care permite examinarea detaliată a mucoasei prin mărirea imaginii. S-a folosit un endoscop Olympus Gif-Q 160Z, care oferă o mărire de 115 ori, folosind un sistem de lentile mobile, ceea ce permite examinarea structurilor mucoasei și arhitecturii vasculare. Pentru o evaluare cât mai exactă, endoscopul trebuie să fie menținut la o anumită distanță de mucoasa gastrică, motiv pentru care s-a atașat la vârful aparatului un cap transparent. Pentru început, s-a administrat un agent mucolitic (N-acetilcisteină de 10%) pentru îndepărtarea stratului de mucus și fixarea mai bună a colorantului. S-a examinat mucoasa gastrică fără magnificare pentru localizarea leziunilor, apoi cu un spray introdus prin canalul operator al endoscopului s-a aplicat colorantul pe mucoasa gastrică. Coloranții utilizați în mod uzual sunt acidul acetic cu concentrație de 1...3% și pH de 2,5, care determină denaturarea reversibilă a unei proteine din citoplasma celulară, cu reacție de albire temporară a zonelor modificate sau albastrul de metilen, care este absorbit de celulele metaplastice. Cantitatea de colorant aplicată a fost de 10...20 ml. După un interval de timp necesar pentru fixarea colorantului (3...4 min), s-a examinat întreaga mucoasă gastrică cu obținerea unor fotografii din zonele cu modificări de pit pattern. Biopsiile țintite din aceste regiuni au permis evaluarea histologică în cadrul Departamentului de Anatomie Patologică, pentru identificarea leziunilor premaligne gastrice [2].

25 Este cunoscută metoda de diagnostic al stărilor precanceroase gastrice morfologic schimbate cu utilizarea investigației endoscopice cu efectuarea biopsiilor și efectuarea examenului morfologic cu depistarea regiunilor morfologic schimbate ale stomacului [3].

Dezavantajele metodelor menționate constau în aceea că sunt invazive, nu toți pacienții suportă investigațiile endoscopice de lungă durată, ceea ce conduce uneori la diagnosticul incorect al stărilor precanceroase gastrice morfologic schimbate, ceea ce conduce la apariția de cancer gastric.

30 Problema pe care o rezolvă invenția constă în elaborarea unei metode neinvazive, care toți pacienții o suportă, care ar indica prezența stărilor precanceroase gastrice morfologic schimbate cu diagnosticarea timpurie cu prescrierea unui tratament eficient și evitarea transformării în cancer gastric.

35 Esența invenției constă în determinarea în serul sangvin al pacientului a valorilor cantitative ale pepsinogenului I (PG-I), pepsinogenului II (PG-II) și raportului dintre valoarea cantitativă a pepsinogenului I și pepsinogenului II, în cazul în care valoarea cantitativă a PG-I este de 64,10...38,37 μg/L, iar a raportului PG-I/PG-II este de 4,59...2,55, se diagnostichează prezența de stare precanceroasă gastrică morfologic schimbată.

40 Rezultatul tehnic al invenției constă în efectuarea unor investigații neinvazive, care toți pacienții o suportă, care indică prezența stărilor precanceroase gastrice morfologic schimbate cu diagnosticarea timpurie cu prescrierea unui tratament eficient și evitarea transformării în cancer gastric.

45 În studiu au fost incluși 142 de pacienți, cu gastrita cronică atrofică (GCA). Lotul general de studiu a fost divizat în 3 subploturi în funcție de tipul morfologic al leziunii: 51 de pacienți cu GCA, fără metaplazie intestinală gastrică (MIG) și fără displazia epiteliului mucoasei gastrice (DEMG) (subplotul 1 de studiu), 51 de pacienți cu GCA și MIG (subplotul 2 de studiu), și 40 de pacienți cu GCA și DEMG (subplotul 3 de studiu). După confirmarea eligibilității, cu acordul pacienților și obținerea consimțământului informat, dar până la includerea în cercetare și investigația inițială, pacienții cu GCA au fost informați despre scopul studiului, beneficiile și riscurile investigațiilor și tratamentului administrat.

50 Sângele a fost colectat din vena cubitală a pacienților, în prima jumătate a zilei, a jeun, după 12 ore de post. Probele de sange au fost centrifugate imediat la 4°C, cu obținerea a câte 5 mL de ser și depozitat (în termen de 2 ore de la colectare) la temperatura de -70°C, până la efectuarea testărilor (în termen de 6 luni). Biomarkerii GastroPanel (PG-I, PG-II, G-17 și HP-IgG) au fost determinați cu imunoteste enzimatiche comerciale GastroPanel® (Analyzer: Seac-Radim, Alisei Q.S., Italy) la Centrul Medical și Laborator Eurolab în conformitate cu instrucțiunile producătorului, iar raportul dintre PG-I și PG-II (PGR) a fost calculat.

La momentul includerii în studiu, caracteristicile socio-demografice (varsta, mediul de trai, nivelul educațional, statutul marital, categoria socio-profesională) erau similare la pacienții din

toate 3 subloturi de studiu. Cu toate acestea, a fost constatată o tendință de creștere a vârstei, concomitent cu avansarea severității GCA: valoarea medie a vârstei în sublotul 1 de studiu a constituit $54,94 \pm 1,9$ ani, în sublotul 2 de studiu – $57,39 \pm 1,4$ ani și în sublotul 3 de studiu – $59,45 \pm 1,7$ ani ($p > 0,05$).

5 Rezultatele au arătat că în lotul general al pacienților din studiul prezent valorile PG-I ($59,38 \pm 2,1$ $\mu\text{g/L}$), PG-II ($14,69 \pm 0,4$ $\mu\text{g/L}$), PGR ($4,37 \pm 0,2$) și G-17 ($6,36 \pm 0,4$ $\mu\text{g/L}$) erau în limitele normei. Însă, concomitent cu agravarea morfologică de la gastrită cronică atrofică spre metaplazie intestinală și displazie, există un trend descendent semnificativ al valorilor PG-I ($p < 0,001$) și PGR ($p < 0,001$).

10 Comparând aceste diferențe în funcție de sublotul de studiu s-a constatat că valoarea medie a PG-I este semnificativ statistic mai mare la pacienții din sublotul 1 de studiu, comparativ cu pacienții din sublotul 2 ($72,63 \pm 3,5$ $\mu\text{g/L}$ și $60,80 \pm 3,3$ $\mu\text{g/L}$, respectiv; $p < 0,01$) și cu pacienții din sublotul 3 ($72,63 \pm 3,5$ $\mu\text{g/L}$ și $40,67 \pm 2,3$ $\mu\text{g/L}$, respectiv; $p < 0,001$), la pacienții din sublotul 2, comparativ cu pacienții din sublotul 3 ($60,80 \pm 3,3$ $\mu\text{g/L}$ și $40,67 \pm 2,3$ $\mu\text{g/L}$, respectiv; $p < 0,001$).

15 Valoarea medie a raportului dintre PG-I și PG-II (PGR) în cohorta generală de studiu constituia $4,37 \pm 0,2$ și era semnificativ statistic mai mare la pacienții din sublotul 1 de studiu, comparativ cu pacienții din sublotul 2 ($5,80 \pm 0,4$ și $4,29 \pm 0,3$, respectiv; $p < 0,001$) și cu pacienții din sublotul 3 ($5,80 \pm 0,4$ și $2,65 \pm 0,1$, respectiv; $p < 0,001$), la pacienții din sublotul 2, comparativ cu pacienții din sublotul 3 ($4,29 \pm 0,3$ și $2,65 \pm 0,1$, respectiv; $p < 0,001$).

20 Nivelul seric scăzut de PG-I și valoarea scăzută a PGR sunt corelate cu severitatea atrofiei mucoasei gastrice în leziunile neoplazice gastrice, indicând astfel că acești parametri sunt biomarkeri sensibili ai leziunilor precanceroase gastrice sau a cancerului gastric precoce.

Exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1

25 Pacienta A., 48 ani, s-a adresat cu acuze de eructație cu miros fetid, greutate în regiunea epigastrică, meteorism, dureri gastrice ce se intensifică după alimentație.

A fost investigată conform metodei revendicate, unde s-a determinat în serul sangvin valoarea cantitativă a PG-I de $59,80$ $\mu\text{g/L}$, iar raportul dintre PG-I/ PG-II este de $4,29$, unde s-a diagnosticat prezența de gastrită cronică atrofică cu metaplazie intestinală gastrică, care a fost confirmată la examenul endoscopic FEGDS (Fibroesofagogastroduodenoscopie) cu prelevarea biopsiei pentru examenul morfologic.

Exemplul 2

30 Pacientul K., 62 ani, s-a adresat cu acuze de eructație cu miros fetid, greutate în regiunea epigastrică, meteorism, dureri gastrice ce se intensifică după alimentație.

35 A fost investigată conform metodei revendicate, unde s-a determinat în serul sangvin valoarea cantitativă a PG-I de $38,37$ $\mu\text{g/L}$, iar raportul dintre PG-I/ PG-II este de $2,55$, unde s-a diagnosticat prezența de gastrită cronică atrofică cu displazia epiteliului mucoasei gastrice, care a fost confirmată la examenul endoscopic FEGDS cu prelevarea biopsiei pentru examenul morfologic.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Bogdan Ianoși, Ionelia Preda, Dan L. Dumitrașcu. Actualități în diagnosticul și tratamentul infecției cu *Helicobacter Pylori*: ce aduce nou consensul Maastricht V/Florence? *Revista Medicina Internă*, № 6, 2016
2. Onișor Danusia Maria, Dobru Daniela, Boeriu Alina, Pascarenco Ofelia, Brusnic Olga, Stoian Adina, Stoian Mircea, Cozma Dan. Endoscopia cu magnificație și cromoendoscopia în gastrita atrofică, metaplazia intestinală și displazia gastrică. *ACTA MEDICA TRANSILVANICA*, Iunie 2012, nr. 2(1), p. 32-34
3. Jian-Min Yang, Lei Chen, Yu-Lin Fan, Xiang-Hong Li, Xin Yu, Dian-Chun Fang. Endoscopic patterns of gastric mucosa and its clinicopathological significance. *World J. Gastroenterol* <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4656539/>>. 2003 Nov 15, vol. 9(11), p. 2552-2556

(57) Revendicări:

Metodă de diagnostic al stărilor precanceroase gastrice morfologic schimbate, care constă în determinarea în serul sangvin al pacientului a valorilor cantitative ale pepsinogenului I (PG-I), pepsinogenului II (PG-II) și raportului dintre valoarea cantitativă a pepsinogenului I și pepsinogenului II (PG-I/PG-II), în cazul în care valoarea cantitativă a PG-I este de 64,10...38,37 μg/L, iar a raportului PG-I/PG-II este de 4,59...2,55, se diagnostichează prezența de stare precanceroasă gastrică morfologic schimbată.