

Вміст сіалових кислот і пепсину у слині та шлунковому соку пацієнтів із захворюваннями шлунка і стравоходу

Р.І. Зуб, С.В. Бичкова, М.А. Бичков¹

Львівський національний університет імені Івана Франка;

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького;

e-mail: s.bychkova@gmail.com

Досліджували вміст сіалових кислот і пепсину у слині та шлунковому соку пацієнтів із захворюваннями шлунка і стравоходу. Встановлено, що ці показники у слині пацієнтів з гастроєзофагеальною рефлюксною хворобою (ГЕРХ) були підвищеними щодо контролю. Чутливість тестів становила 61,1 і 63,6 %, а специфічність 85,7 і 90,9 % відповідно. Співвідношення вмісту пепсину в слині до такого в шлунковому соку статистично значимо відрізнялося між групами пацієнтів з ерозивною та неерозивною формами ГЕРХ, а також між хворими з гастритом. Отже, вимірювання вмісту пепсину та сіалових кислот у слині може бути простим діагностичним методом визначення цього захворювання.

Ключові слова: гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба; гастрит; слина; пепсин; сіалові кислоти.

ВСТУП

Гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба (ГЕРХ) та хронічний гастрит нині вважаються одними з найпоширеніших проблем органів травлення у світі і є актуальними патологіями у структурі кислотозалежних захворювань [1]. ГЕРХ проявляється комплексом клінічних симптомів, які виникають у результаті закиду (рефлюксу) вмісту шлунка і/або дванадцятипалої кишки у стравохід, перебігає з періодичними загостреннями і може мати прогресувальний характер [2]. Дані останніх досліджень дають змогу констатувати, що патогенез ГЕРХ включає порушення функції шлунка, дисфункцію антирефлюксного бар'єра, розлади автономної нервової системи, стравохідного транзиту і кліренсу. Слина відіграє важливу роль у забезпеченні ефективного хімічного очищення стравоходу. Тому важливим є вивчення вмісту окремих компонентів слини у хворих на ГЕРХ для встановлення можливих біомаркерів захворювання.

Через те, що фермент пепсин у нормі утворюється головними клітинами шлунка, його наявність у слині є безперечним доказом того, що відбувся рефлюкс, який досяг ротоглотки [3]. Відомо про дослідження його у рідині, взятої з легень у дітей із хрипами за допомогою бронхоальвеолярного лаважу. Вміст пепсину був значно вищим, ніж у здорових осіб серед дітей із прихованим рефлюксом та з вираженою ГЕРХ [4]. Однак деякі літературні дані вказують на те, що концентрація цього ферменту в слині не є вагомим показником при діагностиці цього захворювання, оскільки немає відмінностей у частоті кислотних та некислотних рефлюксів між пацієнтами з виявленим і невиявленим цим ферментом [5].

Окремим маркером при захворюваннях органів травлення може бути вміст сіалових кислот у слині. За даними досліджень, які проводили у Дніпропетровській обласній дитячій лікарні, концентрація сіалових кислот ротової порожнини у дітей з хронічним гастритом і дуоденітом у період загострення була вищою,

ніж у контрольній групі. Ймовірно, таке підвищення має компенсаторний характер і призводить до зниження в'язкості ротової рідини [6].

Доведено, що найбільш поширеною причиною хронічного гастриту у світі є інфекція *Helicobacter pylori*, яка викликає прогресивне пошкодження слизової оболонки шлунка [7]. Натомість сіалові кислоти мають здатність її пригнічувати [8].

Метою нашого дослідження було визначення вмісту сіалових кислот і пепсину у слині та шлунковому соку пацієнтів із захворюваннями верхніх відділів травного каналу.

МЕТОДИКА

Проаналізували зразки слини та шлункового соку 33 хворих (неерозивна форма ГЕРХ – 11 осіб, ерозивна форма – 7 пацієнтів, хронічний гастрит – 15 осіб, серед яких на тип В хворіло 6 пацієнтів та С – 9 осіб). Слину відбирали натще, після полоскання ротової порожнини дистильованою водою, а шлунковий сік – під час ендоскопічного обстеження пацієнтів за допомогою електровідсмоктувача. Нормальні значення вмісту сіалових кислот та пепсину в слині людини встановлено у 22 практично здорових добровольців. У дослідження не включали пацієнтів із захворюваннями ротової порожнини.

Вимірювання вмісту пепсину в слині та шлунковому соку здійснювали методом Тіна [9]. Для цього в центрифужну пробірку з 0,5 мл дистильованої води додавали 0,5 мл слини або шлункового соку та 2 мл розчину сухої плазми. Контролем була дистильована вода (1,0 мл). Через 20 год після витримування в термостаті при 37°C у кожену пробу додавали 1,0 мл 20-го розчину трихлороцтової кислоти (ТХО) та центрифугували протягом 10 хв при 1500 об/хв. До 1,5 мл центрифугату додавали 0,5 мл 1,5 N NaOH та 3 мл біуретового реактиву, змішували та через 30 хв визначали на фотоелектроколориметрі при зеленому світлофільтрі в кюветі з товщиною робочого

шару 10 мм. Зі значень оптичної щільності дослідного розчину віднімали такі контролю та за калібрувальним графіком знаходили вміст пепсину.

Вимірювання вмісту сіалових кислот проводили резорциновим методом [10]. Для цього 0,5 мл слини або шлункового соку центрифугували протягом 10 хв при 3000g. Згодом до розчину додавали 0,5 мл 9 % ТХО. Отриману суміш гідролізували на водяній бані при 100°C протягом 7-10 хв і охолоджували під проточною водою. До попередньо охолодженого розчину додавали по 1 мл резорцинового реактиву і, перемішавши, поміщали на 15 хв на водяну баню при 100°C, знову охолоджували під проточною водою. До отриманої суміші додавали 4 мл екстрагуючого реактиву, збовтували і залишали на 15 хв. Колориметрували верхній шар при довжини хвилі 575-690 нм у кюветі 5 мм щодо контролю.

Дослідження було схвалено місцевим комітетом з біоетики та проведено відповідно до принципів Гельсінської декларації. Розподіл результатів на нормальність перевіряли методом Колмогорова-Смирнова з використанням програми SPSS Statistics. Для порівняння непараметричних результатів використовували критерій Манна-Уїтні та критерій Монте-Карло. Цифрові результати представлені у вигляді середніх рівнів досліджуваних показників з наведеними довірчими інтервалами (ДІ). Вірогідними вважали зміни при $P < 0,05$. Застосовували ROC (receiver operating characteristic)-аналіз, або ROC-криву, яка будується за допомогою дійсно позитивних значень порівняно з хибно позитивними значеннями для визначення чутливості та специфічності представлених досліджень. ROC-крива дає змогу оцінити якість бінарної класифікації, відображаючи співвідношення між часткою об'єктів від загальної кількості носіїв ознаки (правильно класифікованих) від загальної кількості об'єктів, що не несуть ознаки (помилково класифікованих), які мають цю властивість.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Слід відмітити, що середній вміст пепсину слини у групі практично здорових добровольців становив 0,021 мг/мл (95 % ДІ від 0,019 до 0,024 мг/мл), а серед осіб з неерозивною формою ГЕРХ – 0,032 мг/мл (95 % ДІ від 0,022 до 0,081 мг/мл), у пацієнтів з ерозивною формою захворювання – 0,087 мг/мл (95 % ДІ від 0,017 до 0,101 мг/мл; рис.1). На підставі непараметричного тесту Манна-Уїтні встановлено статистично значиму різницю вмісту пепсину у слині між групами з ерозивною та ендоскопічно-негативною формою ГЕРХ та контрольною ($P < 0,05$).

Цю відмінність підтверджено з використанням критерію Монте-Карло (0,001 і 0,015 відповідно). Однак не виявлено достовірної різниці у значеннях пацієнтів з ерозивною та ендоскопічно-негативною формою захворювання, тому надалі у ROC-аналізі ми об'єднали дві дослідні вибірки. Розподіл значень у них характеризувався значним перекриттям зон (рис.2), таким чином виникала потреба виявити "точку розподілу" між хворими і здоровими для встановлення можливості використання тесту вимірювання вмісту пепсину в слині для

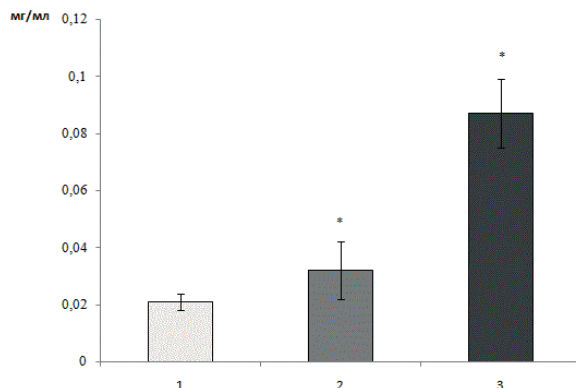


Рис.1. Вміст пепсину слини у пацієнтів (мг/мл): 1 – контроль (практично здорові добровольці); 2 – пацієнти з ендоскопічно-негативною гастроєзофагеальною рефлюксною хворобою; 3 – пацієнти з ерозивною формою захворювання. * $P < 0,05$ відносно контролю

верифікації діагнозу ГЕРХ. Побудована нами ROC-крива дала змогу знайти оптимальну "точку розподілу", що наразі була 0,031 мг/мл (пацієнти з вмістом пепсину слини вище ніж 0,031 мг/мл ймовірно мали захворювання). За такої "точки розподілу" чутливість цього дослідження становила 61,1 %, а специфічність – 85,7 %. Таким чином, вимірювання вмісту пепсину слини як тест має нижчу чутливість, ніж відповідне дослідження на вміст іонізованого кальцію при діагностуванні ГЕРХ [11], проте є досить специфічним, що має забезпечити низький відсоток хибно негативних результатів.

Аналізуючи вищенаведені результати, ми дійшли висновку, що, очевидно, статистично значима різниця у концентраціях пепсину слини між пацієнтами з ендоскопічно-негативною ГЕРХ та з ерозивною формою захворювання має бути, але розміри нашої вибірки на цьому етапі дослідження не дають змоги її підтвердити, що залишає перспективу подальших досліджень зі встановлення вмісту цього ферменту у слині, за якого можемо говорити про ймовірну наявність ерозивної форми без ендоскопічного обстеження. Розв'язок рівняння логістичної регресії підтверджує, що у разі позитивного результату тесту (концентрація пепсину слини більше ніж 0,031 мг/мл) ймовірність захворювання згідно з розрахунковим значенням становить 79 %, а при негативному результаті – 28 %.

Отже, вимірювання вмісту пепсину сли-

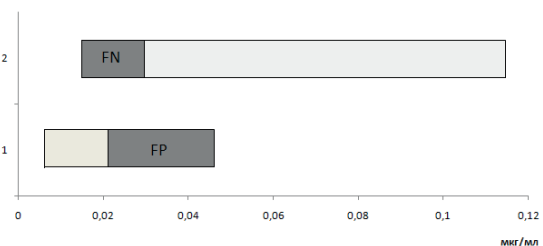


Рис.2. Вміст пепсину у слині пацієнтів різних груп (мг/мл): 1 – контроль (практично здорові добровольці); 2 – пацієнти з гастроєзофагеальною рефлюксною хворобою; FN – хибно негативні результати (false negative), FP – хибно позитивні результати (false positive)

ни дає можливість підтвердити ГЕРХ майже так само, як і визначення вмісту кальцію у цій рідині [11]: 79 % ймовірності наявності захворювання при виявленні ферменту в слині та 83 % – при вимірюванні концентрації кальцію. Проте стосовно заперечення діагнозу вимірювання вмісту пепсину слини має вищі значення ймовірності відсутності захворювання при негативному пепсиновому тесті: 28 % порівняно з 9 % відповідного показника при визначенні вмісту кальцію. Асимптоматична значимість коефіцієнтів логістичної регресії не перевищувала критичних значень, а загальна достовірність становила $P=0,002$ ($\chi^2=9,639$). Можемо говорити про високу надійність створеної моделі. Показник відповідності Нагелкерка був 0,293. Попри хорошу статистичну значущість коефіцієнтів регресії, наша модель вірогідно описує лише 29,3 % дисперсії загальної вибірки, що є досить низьким показником і потребує вдосконалення. Оскільки як кальцієвий [11], так і пепсиновий тест слини дають непогані результати щодо діагностування ГЕРХ, логічно було б припустити, що їх комбінація буде інформативнішою, ніж окреме використання.

Вміст пепсину шлункового соку у групі практично здорових добровольців становив 0,41 мг/мл (95 % ДІ від 0,33 до 0,61 мг/мл), серед пацієнтів з ендоскопічно-негативною ГЕРХ – 0,37 мг/мл (95 % ДІ від 0,28 до 0,95 мг/мл), в осіб з ерозивною формою – 0,57 мг/мл (95% ДІ від 0,29 до 0,95 мг/мл). Значимої різниці між досліджуваними групами не виявлено. Несуттєво вищі, ніж у контролі показники можемо спостерігати лише в осіб з ерозивною формою захворювання. Провівши статистичні аналізи, ми дійшли висновку, що концентрації пепсину шлункового соку осіб з ГЕРХ (обох груп) коливаються в схожих межах. З огляду на це, відсутні й кореляційні зв'язки між вмістом пепсину слини та шлункового соку.

Порівняння співвідношень концентрації пепсину шлункового соку та слини серед досліджуваних груп виявило наявність статисти-

чно значимої різниці пропорцій ($P=0,032$) між групами пацієнтів з ендоскопічно-негативною та особами з ерозивною формами попри відсутність такої між цими показниками.

Серед пацієнтів з гастритом типу В вміст пепсину слини становив 0,031 мг/мл (95 % ДІ від 0,005 до 0,041 мг/мл), що не відрізняється статистично достовірно від значень контрольної групи та групи з неерозивною ГЕРХ, але було нижчим щодо значень у пацієнтів з ерозивною формою ($P<0,05$) у 2,8 раза. Тобто можна стверджувати, що не спостерігалось розвитку рефлюксу вмісту шлунка. Вміст пепсину слини у групі осіб з гастритом типу С становив 0,028 (95 % ДІ від 0,022 до 0,054 мг/мл), що в 1,3 раза ($P<0,05$) вище від контролю і не відрізнявся від значень в осіб з ГЕРХ обох груп. Отже, за розвитку в обстежених пацієнтів гастриту С можна стверджувати ще й про наявність рефлюксу. Середні значення концентрації пепсину у шлунковому соку у групі з гастритом В становили 0,75 мг/мл (95 % ДІ від 0,29 до 1,24 мг/мл), а у вибірці з гастритом С – 0,41 мг/мл (95 % ДІ від 0,26 до 0,88 мг/мл), що не відрізняється статистично достовірно від інших груп обстежених пацієнтів. Співвідношення вмісту пепсину шлункового соку та слини у групі з гастритом типу В становило 29,5 (95 % ДІ від 17,3 до 95,2), типу С – 14,3 (95 % ДІ від 5,3 до 29,9). Слід зазначити, що воно відрізняється між усіма досліджуваними групами статистично достовірно, що свідчить про можливість диференційної діагностики між гастритом типу В та С за цим показником.

У разі вимірювання концентрації сіалових кислот у слині нами були отримані такі результати (рис. 3): середні значення вмісту сіалових кислот у слині практично здорових добровольців становили 0,057 мкг/мл (95 % ДІ від 0,024 до 0,073 мкг/мл), а серед пацієнтів з ГЕРХ – 0,077 мкг/мл (95 % ДІ від 0,033 до 0,374 мкг/мл). У пацієнтів з ГЕРХ статистично значимо відносно контролю зростав вміст сіалових кислот у слині на 35

%). Асимптотична значимість різниці між групами становила $P=0,05$. Критерій Монте-Карло для цього порівняння $P=0,03$ (99 % ДІ критерію від $P=0,026$ до $P=0,034$). Таке зростання може свідчити про компенсаторну реакцію організму, спрямовану на покращення захисних властивостей слини при виникненні шлунково-стравохідного рефлюксу.

За допомогою ROC-аналізу нами визначена "точка відсічення", що збігається зі вмістом сіалових кислот у слині $0,074$ мкг/мл (особи з концентрацією сіалових кислот у слині більше ніж $0,074$ мкг/мл, ймовірно, мають захворювання). У такому випадку чутливість та специфічність цього показника у діагностиці ГЕРХ була $63,6$ та $90,9$ % відповідно.

З розв'язку рівняння логістичної регресії випливає, що при позитивному тесті на сіалові кислоти слини ймовірність наявності захворювання становить 88 %, а при негативному – 29 %. Слабке заперечення вірогідності патології зумовлене порівняно низькою чутливістю тесту. Асимптотична достовірність створеної регресії $P=0,005$ ($\chi^2=7,719$). Значення показника відповідності Нагелкєрка – $0,395$ (модель достовірно описує $39,5$ % дисперсії вибірки).

Таким чином, вимірювання вмісту сіалових кислот слини з діагностичною метою є

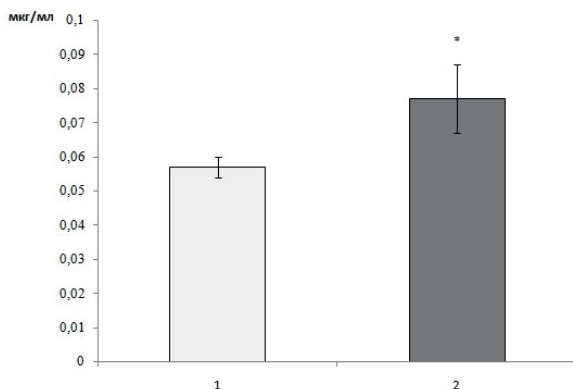


Рис.3. Середні значення вмісту сіалових кислот (мкг/мл) у таких групах пацієнтів: 1 – практично здорові добровольці; 2 – пацієнти з гастроєзофагеальною рефлюксною хворобою: * $P<0,05$ відносно контролю

тестом, який описує результати нашої вибірки краще, ніж визначення вмісту пепсину у тому самому біосередовищі. Водночас насторожує перевищення критичного значення достовірності для константи рівняння ($P=0,121$). Тож на цьому етапі ми не можемо застосувати отримані результати як діагностичний інструмент у верифікації діагнозу ГЕРХ. Однозначно, зважаючи на високу специфічність, визначення вмісту сіалових кислот у слині може стати перспективною методикою підтвердження наявності ГЕРХ. Наше дослідження підтверджує статистично значиму різницю вмісту цих речовин у слині пацієнтів з ГЕРХ та практично здорових добровольців.

Вміст сіалових кислот у шлунковому соку у групі з ГЕРХ становив $0,066$ мкг/мл (95 % ДІ від $0,021$ до $0,341$ мкг/мл), серед практично здорових добровольців – $0,061$ мкг/мл (95 % ДІ від $0,024$ до $0,098$ мкг/мл). Між досліджуваними групами відсутня статистично значима різниця. Попри відсутність достовірності рівнів сіалових кислот у шлунковому соку досліджуваних груп (рис.4), зона розподілу відповідного показника для пацієнтів з ГЕРХ значно зсунута вправо (характерно вищий вміст сіалових кислот). Це може бути зумовлено як супутнім гастритом, так і потраплянням сіалових кислот до шлункового соку з слиною.

Таким чином, встановлено, що вміст пепсину в слині пацієнтів з ерозивною

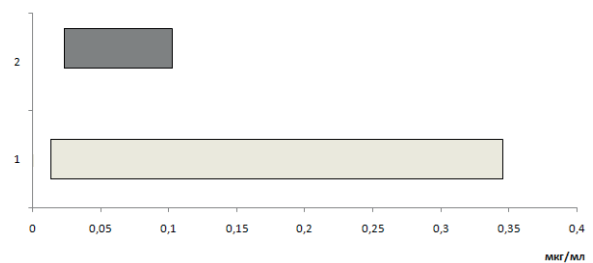


Рис.4. Концентрація сіалових кислот у шлунковому соку (мкг/мл): 1- контроль (практично здорові добровольці), 2 – пацієнти з гастроєзофагеальною рефлюксною хворобою (об'єднана вибірка)

формою ГЕРХ підвищений у 4 рази, а у групі з неерозивною ГЕРХ у 1,5 рази порівняно з практично здоровими добровольцями. Достовірної різниці між групами з ерозивною та неерозивною формами ГЕРХ не виявлено. З використанням ROC-аналізу показано, що чутливість тесту становила 61,1 %, а специфічність 85,7 %. Вміст пепсину в шлунковому соку пацієнтів з різними формами ГЕРХ та контрольною групою не відрізнявся. Проте співвідношення вмісту пепсину в слині до вмісту такого в шлунковому соку було різним між групами пацієнтів з ерозивною та неерозивною формами ГЕРХ, а також між хворими з гастритом. Встановлено, що вміст пепсину у слині пацієнтів з гастритом не змінювався порівняно з контролем та з групою з неерозивною ГЕРХ, але був нижчим порівняно з ерозивною формою ГЕРХ у 2,8 рази. Середні значення концентрації пепсину слини у групі осіб з гастритом типу С в 1,3 рази вище від контролю і не відрізняються від значень у осіб з ГЕРХ обох груп. Виявлена статистично обґрунтована різниця показників співвідношення пепсину шлункового соку до такого слини між усіма досліджуваними групами пацієнтів. Показано, що у пацієнтів з ГЕРХ зростає вміст сіалових кислот у слині на 35 % відносно контролю. З використанням ROC-аналізу встановлено, що "точка розподілу" перебувала на рівні 0,074 мкг/мл, при цьому чутливість тесту становила 63,6 %, а специфічність – 90,9 %. Отже, дослідження вмісту пепсину та сіалових кислот у слині може бути простим діагностичним методом визначення такого захворювання.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

Р.И. Зуб, С.В. Бычкова, М.А. Бычков¹

СОДЕРЖАНИЕ СИАЛОВЫХ КИСЛОТ И ПЕПСИНА В СЛЮНЕ И ЖЕЛУДОЧНОМ СОКЕ ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЖЕЛУДКА И ПИЩЕВОДА

Исследовали содержание сиаловых кислот и пепсина в слюне и желудочном соке пациентов с заболеваниями желудка и пищевода. Установлено, что эти показатели в слюне пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ) являются повышенными относительно контроля. ROC-анализ показал, что чувствительность тестов составляет 61,1 % и 63,6 %, а специфичность 85,7 и 90,9 %, соответственно. Соотношение содержания пепсина в слюне к содержанию такого в желудочном соке статистически значимо отличалось между группами пациентов с эрозивной и неэрозивной формами ГЭРБ, а также между больными с гастритом. Таким образом, измерения содержания пепсина и сиаловых кислот в слюне может быть простым диагностическим методом определения этой болезни.

Ключевые слова: гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь; гастрит; слюна; пепсин; сиаловые кислоты.

R.I. Zub, S.V. Bychkova, M.A. Bychkov¹

CONTENT OF SIALIC ACID AND PEPSIN IN SALIVA AND GASTRIC JUICE OF PATIENTS WITH DISEASES OF STOMACH AND ESOPHAGUS

It is an extremely important development and implementation into clinical practice of new affordable for widespread use of methods to diagnose acid-dependent diseases of the esophagus and stomach. One of these methods may be research of pepsin or sialic acid content in saliva and gastric juice of patients. We have analyzed samples of saliva and gastric juice in patients with gastroesophageal reflux disease (GERD) and chronic gastritis. The comparison was performed with samples taken in healthy volunteers (control). Measurement of pepsin content in the samples was carried out photometrically using biuret reagent, and sialic acids - using resorcinol.

It was established that the content of sialic acids and pepsin in saliva of patients with GERD is higher than control. ROC-analysis showed that the sensitivities of the test are 61.1 % and 63.6 % and specificities are 85.7 % and 90.9 %, respectively. The ratios of pepsin's content in saliva to it's content in gastric juice are statistically significantly differentiated between the groups of patients with erosive and none erosive form GERD and between patients with gastritis. It was concluded, that measurement of sialic acids and pepsin in saliva might be a simple diagnostic method for determining GERD.

Key words: gastroesophageal reflux disease; gastritis; saliva; pepsin; sialic acid.

Ivan Franko National University of Lviv;

¹Danylo Galysky National Medical University of Lviv; e-mail: s.bychkova@gmail.com

REFERENCES

1. Dragomiretskaya NV. Evolution in understanding the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease and ways to improve its therapy. *Modern Gastroent.* 2016; 3 (89): 81-8. [Russian].
2. Makhov VM, Turko TV, Tarba NS. Treatment of gastroesophageal reflux disease - multifactorial campaign. *Russian Med J.* 2013. 31; 1627-31. [Russian].
3. Fortunato JE, D'Agostino RBJr, Lively MO Pepsin in saliva as a biomarker for oropharyngeal reflux compared with 24-hour esophageal impedance/pH monitoring in pediatric patients. *Neurogastroen Motil.* 2016; 1-10.
4. Abdallah AF, El-Desoky T, Fathi K, Elkashef WF., Zaki A. Clinical utility of bronchoalveolar lavage pepsin in diagnosis of gastroesophageal reflux among wheezy infants. *Canad Respir J.* 2016; 2016: 1-7.
5. Dy F, Amirault J, Mitchell PD, Rosen R. Salivary pepsin lacks sensitivity as a diagnostic tool to evaluate extraesophageal reflux disease. *J of Pediatr.* 2016; 177: 57-60.
6. Romanenko EG. Composition of glycoproteins of oral liquid in children with chronic gastroduodenal pathology. *Ukr Dental Almanac.* 2012. 2 (2): 23-4. [Ukrainian].
7. Report on the Kyoto international consensus on gastritis associated with *Helicobacter pylori*. *Modern Gastroenterol.* 2016; 1 (87): 35-53. [Russian].
8. Yuksel ES, Hong S, Strugala V et al. Rapid salivary pepsin test: blinded assessment of test performance in gastroesophageal reflux disease. *Laryngoscope.* 2012; 22: 1312-16.
9. Tin VP. Method for determination of pepsin in gastric juice using colorimetry. *Clin Lab Diagnosis.* 1986; 11: 656-7. [Russian].
10. Sharaev PN. Determination of sialic acids by resorcinol method. *Clin Lab Diagnosis.* 1990. 11: 38-40. [Russian].
11. Bychkov MA, Bychkova SV, Shvydkyy YB., Bychkov YA. Efficiency of differential diagnosis of gastroesophageal reflux disease according to calcium salivary content. *Exp and Clin Physiol and Biochem.* 2014; 2 (66): 86-91. [Ukrainian].
12. Bychkov MA, Bychkov YA., Bychkova SV The value of non-invasive diagnostic methods for gastroesophageal reflux disease. *Ukr Med J.* 2013; 5 (97): 124-6. [Ukrainian].

*Матеріал надійшов
до редакції 31.10.2016*