

УДК 616.329-091.8:616.329-072.1

В.В. Гаргин, В.В. Сакал

Харьковский национальный медицинский университет

ГУ «Национальный институт терапии имени Л.Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков

ВЫЯВЛЕНИЕ И АНАЛИЗ МЕТАПЛАСТИЧЕСКИХ И ДИСПЛАСТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПИЩЕВОДА ПРИ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНИ

Определяли оптимальные способы выявления метапластических и диспластических изменений слизистой оболочки пищевода при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. Нами обследованы пациенты с проявлениями гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. Установлено, что дисплазия эпителия низкой степени в участках кишечной метаплазии слизистой пищевода характеризуется сочетанием дисрегенераторных изменений с высокой экспрессией p53 и сопровождается повышением индекса апоптоза и пролиферации. При развитии в участках кишечной метаплазии слизистой пищевода дисплазии высокой степени сохраняется повышенная экспрессия p53 и отмечается снижение апоптотической активности. Признаки метаплазии и дисплазии эпителия обязательно должны использоваться в качестве морфологических критериев диагностики осложнений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. Ранняя диагностика дисплазии и метаплазии эпителия слизистой оболочки пищевода может быть обоснованием активного диспансерного наблюдения больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью для возможного предупреждения развития аденокарциномы пищевода путем проведения адекватного лечения предракового состояния.

Ключевые слова: *гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, метаплазия, дисплазия, морфология.*

Большинство ученых определяют гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (ГЭРБ) как хроническое рецидивирующее заболевание, которое проявляется характерными клиническими признаками и обусловлено спонтанным, регулярно повторяющимся ретроградным забросом (рефлюксом) кислого желудочного или щелочного дуоденального содержимого в пищевод с повреждением его дистальных отделов (воспаление, эрозии, пептическая язва) [1, 2]. Вместе с тем существует мнение, что ГЭРБ – это не самостоятельная нозологическая форма, а лишь комплекс нозологических симптомов и/или морфологических изменений, возникающих в нижней трети пищевода в результате гастроэзофагеального рефлюкса [2, 3]. Так, изжогу, которая беспокоит больных с язвенной болезнью, следует рассматривать как одно из

проявлений и осложнение язвенной болезни и как «второе заболевание» – ГЭРБ. Термин «ГЭРБ», или «рефлюксная болезнь пищевода», был рекомендован Генвальским симпозиумом (Genval Workshop Report, 1999) [4].

Метаплазию и дисплазию эпителиальной ткани желудочно-кишечного тракта принято рассматривать как неблагоприятные прогностические факторы, при этом единого мнения в оценке указанных процессов достичь не удается [5]. Соответственно, нет единого мнения в отношении критериев прогрессии пищевода Барретта (ПБ) у патоморфологов. Так, например, интестинальная метаплазия пищевода и кардии желудка имеют разный злокачественный потенциал и, как следствие, прогноз [6].

Целью нашей работы явилось определение оптимальных способов выявления и

© В.В. Гаргин, В.В. Сакал, 2014

анализ метапластических и диспластических изменений слизистой оболочки пищевода при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.

Материал и методы. Нами были изучены биоптаты 223 больных, у которых была диагностирована ГЭРБ: 72 женщин и 151 мужчины в возрасте от 22 до 80 лет. В соответствии с клинико-эндоскопической классификацией, принятой на IX Европейской гастроэнтерологической неделе в Амстердаме, после сопоставления эндоскопических и гистологических данных исследуемый материал был разделен на три подгруппы: к неэрозивной ГЭРБ (НЭГЭРБ) было отнесено 104 случая, или 46,64 %; эрозивно-язвенной форме (ЭЯГЭРБ) соответствовала картина у 77 пациентов, т. е. 34,53 %; ПБ выявлен у 42 пациентов (18,8 %).

Проводили иммуногистохимическое исследование постановкой непрямо́й иммунопероксидазной реакции с моноклональными антителами фирмы Thermo scientific Ki-67, p53, bcl-2. Реакцию визуализировали с помощью набора UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen (Thermo scientific).

При изучении слизистой оболочки пищевода (СОП) оценивали следующие гистологические признаки: наличие и степень выраженности метапластических и диспластических изменений в слизистой пищевода, вместе с тем изучали остальные признаки, характерные для ГЭРБ (наличие эрозивных или язвенных изменений). Указанные признаки подвергали градации. При отсутствии признака ему давали нулевое значение, при наличии оценивали согласно рекомендациям международных экспертов в зависимости от степени выраженности (от 1 до 3). Микропрепараты изучали под микроскопом «Olympus BX-41» (Япония) с последующей обработкой программой «Olympus DP-soft version 3.2», с помощью которой проводили морфометрическое исследование.

Результаты и их обсуждение. В проведенных нами ранее исследованиях описаны эндоскопические и гистологические особенности ГЭРБ [7–10]. Морфологическими признаками дисплазии являются: клеточный атипизм (ядерный полиморфизм, гиперхромазия, увеличение ядерно-цитоплазматического индекса, стратификация ядер); нарушение диф-

ференцировки; нарушение архитектоники слизистой (пролиферация и расслоение желез с формированием поверхностных и внутрижелезистых сосочковых структур) [6, 11]. Следует отметить, что рядом авторов считается, что описанные изменения позволяют выделять дисплазию СОП как признак, подтверждающий ПБ при отсутствии в биоптате бокаловидных клеток [4, 7].

В ходе нашей работы достаточно неожиданно оказалось выявление дисплазии при относительно нетяжелых формах ГЭРБ. Так, при морфологическом исследовании биоптата установлено, что для неэрозивной формы характерны: гиперплазия базальных клеток, занимающая 15–20 % толщины эпителиального слоя; умеренные явления гипер-, паракератоза, нейтрофильная и особенно эозинофильная инфильтрация эпителиального пласта. В подлежащих тканях определяются лимфоидные инфильтраты. Но в некоторых случаях утолщение многослойного плоского эпителия отсутствует, а одновременно определяются признаки слабовыраженной регенераторной дисплазии (нарушение дифференцировки, отсутствие стратификации).

В группе больных с НЭГЭРБ на фоне интраэпителиальной воспалительной инфильтрации, представленной как нейтрофилами, так и эозинофилами, отдельные клетки нижней трети эпителиального слоя были полиморфными, имели умеренно гиперхромные ядра, иногда – с фигурами митозов, т. е. имели признаки незначительной дисплазии эпителия.

В участках дисплазии нами были выявлены: нарушение архитектоники слизистой оболочки в целом, что характеризуется пролиферацией и разглаживанием желез с формированием поверхностных и внутрижелезистых сосочковых структур; клеточный атипизм, для которого свойственно наличие ядерного полиморфизма, гиперхромазии, стратификации ядер и увеличение ядерного цитоплазматического индекса; нарушение дифференцировки клеток эпителиального происхождения.

Диспластические изменения выявлены в группе больных с НЭГЭРБ: дисплазия I степени наблюдалась у 11 пациентов (10,6 %), дисплазия II степени – у 1 больного (0,96 %), III степень не выявлена. В группе больных с ЭЯГЭРБ дисплазия I степени наблюдалась у 15 пациентов (19,5 %), дисплазия II сте-

пени – у 2 больных (2,6 %), III степень не выявлена. При ПБ выявлены такие данные: дисплазия I степени наблюдалась у 9 пациентов (21,4 %), II степени – у 12 больных (28,6 %), III степень не выявлена.

Абсолютные значения I и II степени выраженности дисплазии распределились достаточно равномерно между тремя формами ГЭРБ. При этом наблюдалось преобладание I степени выраженности признака, а II степень встречалась в несколько раз реже. При этом стоит отметить наличие дисплазии (и достаточно часто!) при НЭГЭРБ.

Дисплазия эпителия низкой степени в участках кишечной метаплазии слизистой пищевода характеризуется сочетанием дисрегуляторных изменений с высокой экспрессией p53 и сопровождается повышением индекса апоптоза и пролиферации. При развитии в участках кишечной метаплазии слизистой пищевода дисплазии высокой степени сохраняется повышенная экспрессия p53 и отмечается снижение апоптотической активности.

Выявление метаплазии пищеводного эпителия является определяющим в диагностике ПБ. В зависимости от степени выраженности 42 случая ПБ распределились следующим образом: I степень – у 12 пациентов (28,57 %), II – у 21 больного (50 %), III – у 9 (21,43 %).

Выявление метаплазии многослойного плоскочелочного эпителия как проявление ПБ считают одним из неблагоприятных осложнений ГЭРБ [12]. Одновременно ПБ является и формой ГЭРБ. Метаплазией называют замещение плоского неороговевающего эпителия пищевода клетками другого строения (цилиндрическим желудочным или кишечным эпителием), что некоторыми авторами рассматривается как защитная реакция организма [2, 13, 14]. По данным зарубежных источников, кишечный тип метаплазии – наличие специализированного цилиндрического эпителия – относят к облигатным предракам [15, 16]. При наличии в пищеводе желудочной метаплазии существует вероятность полной и неполной кишечной метаплазии этих желудочных желез, а также и дисплазии. Неполную кишечную метаплазию считают предраковым состоянием, а ее участки с содержанием сульфомуцинов расценивают как маркеры высокого риска мали-

гнизации [17]. Вместе с тем некоторые авторы считают, что роль кишечной метаплазии в канцерогенезе определяется не ее типом, а диспластическими изменениями метаплазированного эпителия [14, 18].

По гистологическому строению рак пищевода при рефлюкс-эзофагите развивается чаще всего из железистого эпителия (аденокарциномы) на фоне диспластических изменений ПБ. Имеются данные, что 95 % случаев железистого рака пищевода диагностируют у больных с ПБ [19] и очень редко – из многослойного плоского эпителия.

Эрозивно-язвенная форма ГЭРБ характеризуется повреждением плоского эпителия пищевода и появлением эрозий, которые сопровождаются воспалительной инфильтрацией, частичным или полным разрушением плоскочелочного эпителия. В дальнейшем при прогрессировании заболевания появляется язва дистальной части пищевода, которая характеризуется более глубоким поражением стенки с полной потерей плоского эпителия, наличием в дне язвы фиброзной ткани и разрастанием грануляционной ткани. В случаях эпителизации эрозий и язв пищевода в многослойном плоском эпителии отмечают усиление пролиферации и нарушение дифференцировки клеток, дисплазия, что в дальнейшем может привести к раку пищевода [11, 14]. Длительная метаплазия сопровождается дисплазией – отклонением от нормальной структуры клеток в сторону неопластического развития, которое проявляется клеточной атипией и нарушением дифференцировки эпителия [17, 20]. Все сказанное подтверждает необходимость обязательного взятия биопсии при ГЭРБ даже при кажущейся ясности эндоскопической картины [21–23].

Развитие кишечной метаплазии эпителия пищевода и дисплазии низкой степени характеризуется увеличением индекса апоптоза и пролиферации. Считается, что на более поздних этапах при развитии дисплазии высокой степени и аденокарциномы пролиферация продолжает увеличиваться, наблюдается снижение индекса апоптоза клеток. В свою очередь, снижение апоптоза свидетельствует о нарушении механизма выявления и удаления клеток с поврежденным генетическим материалом.

Считается, что появление экспрессии белка p53, отражающее накопление мутаций гена p53, наблюдается только при кишечной метаплазии, но не в многослойном плоском эпителии. При дисплазии отмечается (и в нашем исследовании это подтверждено) дальнейшее накопление клеток с мутантным геном p53. Ген p53 является клеточным онкогеном, имеющим важное значение в репарации ДНК и гибели трансформированных клеток с серьезными повреждениями ДНК путем апоптоза. Эпителий в очагах дисплазии при ПБ отличается нарушением созревания клеток.

Желудочная метаплазия по уровню показателей апоптоза и пролиферации не отличается существенно от нормального плоскоклеточного эпителия пищевода. Так же, как и в многослойном плоском эпителии, при желудочной метаплазии не выявляется мутантный белок p53. Это говорит в пользу того, что непосредственным предраковым потенциалом обладает именно кишечная метаплазия эпителия пищевода, а не желудочная.

Выводы

1. Дисплазия эпителия низкой степени в участках кишечной метаплазии слизистой

пищевода характеризуется сочетанием дисрегуляторных изменений с высокой экспрессией p53 и сопровождается повышением индекса апоптоза и пролиферации. При развитии в участках кишечной метаплазии слизистой пищевода дисплазии высокой степени сохраняется повышенная экспрессия p53 и отмечается снижение апоптотической активности.

2. Признаки метаплазии и дисплазии эпителия обязательно должны использоваться в качестве морфологических критериев диагностики осложнений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.

3. Ранняя диагностика дисплазии и метаплазии эпителия слизистой оболочки пищевода может быть обоснованием активного диспансерного наблюдения больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью для возможного предупреждения развития аденокарциномы пищевода путем проведения адекватного лечения предракового состояния.

Перспективой дальнейших исследований является возможность использования полученных данных в выборе тактики ведения больных с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью.

Список литературы

1. Успенский Ю. П. Изжога и гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь в гастроэнтерологической практике / Ю. П. Успенский // Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология. – 2012. – № 6. – С. 50–52.
2. Бабак О. Я. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь / О. Я. Бабак, Г. Д. Фадеенко. – К. : Интерфарма, 2000. – 175 с.
3. Фадеенко Г. Д. Внепищеводные проявления гастроэзофагеальной рефлюксной болезни: как их распознать? / Г. Д. Фадеенко // Сучасна гастроентерологія. – 2004. – № 3. – С. 12–17.
4. An evidence-based appraisal of reflux disease management – the Genval Workshop Report / J. Dent, J. Brun, A. M. Fendrick [et al.] // Gut. – 1999. – V. 44. – P. S1–S16.
5. Циммерман Я. С. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: патогенез, клиника, диагностика и лечение / Я. С. Циммерман, Л. Г. Воложанина // Клиническая медицина. – 2005. – № 9. – С. 16–24.
6. Пирогов С. С. Молекулярно-генетические исследования в диагностике и оценке неопластической прогрессии пищевода Барретта (обзор) / С. С. Пирогов, А. И. Карселадзе // Сибирский онкологический журнал. – 2008. – № 1. – С. 85–94.
7. Гаргин В. В. Патологічні зміни слизової стравоходу у хворих на гастроэзофагеальну рефлюксну хворобу / В. В. Гаргин, В. В. Сакал // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – № 3, ч. 2. – С. 67–69.
8. Гаргин В. В. Сопоставление эндоскопических и гистологических данных при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни / В. В. Гаргин, В. В. Сакал // Експериментальна і клінічна медицина. – 2012. – № 4 (57). – С. 34–37.
9. Гаргин В. В. Значимость гистологических данных в диагностике гастроэзофагеальной рефлюксной болезни / В. В. Гаргин, В. В. Сакал // Медицина сьогодні і завтра. – 2012. – № 3–4 (56–57). – С. 26–29.

10. Гаргин В. В. Микроциркуляторные расстройства при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни / В. В. Гаргин, В. В. Сакал // Украинський медичний альманах. – 2013. – № 3. – С. 90–92.
11. Степанов Ю. М. Морфологическая структура слизистой оболочки пищевода у больных с эрозивной и неэрозивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, рефрактерной к антисекреторной терапии / Ю. М. Степанов, А. Мохамед // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – № 3. – С. 25–30.
12. Морошек А. А. Современные принципы диагностики и лечения пищевода Барретта : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.27 «Хирургия»; 14.00.14 «Онкология» / А. А. Морошек. – Казань, 2008. – 26 с.
13. Белоус Т. А. Пищевод Барретта: морфологические основы развития / Т. А. Белоус // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2002. – Т. 12, № 5. – С. 63–66.
14. Курик О. Г. Стравохід Барретта: сучасні морфологічні аспекти / О. Г. Курик, М. Д. Андреев // Хірургія України. – 2009. – № 4. – С. 105–108.
15. Specialized intestinal metaplasia, dysplasia and cancer of the esophagus and esophagogastric junction: prevalence and clinical data / W. Hirota, T. Louhney, D. Lazas [et al.] // Gastroenterology. – 1999. – V. 116. – P. 277–285.
16. Weston A. P. Prospective multivariate analysis of clinical, endoscopic and histologic factors predictive of the development of Barrett's multilocal high grade dysplasia or adenocarcinoma features, associated endoscopic findings and associations with gastric intestinal metaplasia / A. P. Weston, A. Badr, R. Hassanein // Am. J. Gastroenterol. – 1999. – V. 94. – P. 3413–3419.
17. Cytokeratin 7/20 and MUC1, 2, 5AC, and 6 expression patterns in Barrett's esophagus and intestinal metaplasia of the stomach: intestinal metaplasia of the cardia is related to Barrett's esophagus / C. Gulmann, O. A. Shaqqa, A. Grace [et al.] // Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. – 2004. – № 2. – P. 142–147.
18. Extent of high grade dysplasia in Barrett's esophagus correlates with risk of adenocarcinoma / N. S. Buttar, K. K. Want, T. J. Sebo [et al.] // Gastroenterol. – 2001. – V. 120. – P. 1630–1639.
19. Spechler S. Barrett's esophagus and cancer of gastrointestinal junction / S. Spechler // Esophagus. – 2005. – V. 2, № 4. – P. 169–173.
20. Предопухольевые изменения слизистой оболочки желудка: морфологические аспекты изучения биопсийного материала / Д. С. Мельченко, Г. В. Белова, Д. В. Сазонов, А. А. Будзинский // Клин. эндоскопия. – 2008. – № 3. – С. 38–45.
21. Biopsy surveillance is still necessary in patients with Barrett's esophagus despite new endoscopic imaging techniques / K. Egger, M. Werner, A. Meining [et al.] // Gut. – 2003. – V. 52. – P. 18–23.
22. Рефлюкс-эзофагит: эндоскопические и морфологические параллели / Т. П. Пинчук, И. Е. Паланкина, М. М. Абакумов, С. В. Волков // Рос. мед. вестн. – 2000. – № 3. – С. 64–66.
23. Pathophysiology, diagnosis and treatment of non-erosive reflux disease (NERD) // A. Papa, R. Urgesi, S. Danese [et al.] // Minerva Gastroenterol. Dietol. – 2004. – V. 50. – P. 215–226.

В.В. Гаргин, В.В. Сакал

ВИЯВЛЕННЯ ТА АНАЛІЗ МЕТАПЛАСТИЧНИХ І ДИСПЛАСТИЧНИХ ЗМІН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ СТРАВОХОДУ ПРИ ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛЬНІЙ РЕФЛЮКСНІЙ ХВОРОБИ

Визначали оптимальні способи виявлення метапластичних і диспластичних змін слизової оболонки стравоходу при гастроэзофагеальній рефлюксній хворобі. Нами обстежені пацієнти з проявами гастроэзофагеальної рефлюксної хвороби. Встановлено, що дисплазія епітелію низького ступеня в ділянках кишкової метаплазії слизової стравоходу характеризується поєднанням дисрегенераторних змін з високою експресією p53 і супроводжується підвищенням індексу апоптозу та проліферації. При розвитку в ділянках кишкової метаплазії слизової стравоходу дисплазії високого ступеня зберігається підвищена експресія p53 і відмічається зниження апоптотичної активності. Ознаки метаплазії і дисплазії епітелію обов'язково повинні використовуватись як морфологічні критерії діагностики ускладнень гастроэзофагеальної рефлюксної хвороби. Рання діагностика дисплазії і метаплазії епітелію слизової оболонки стравоходу може бути обґрунтована активним

диспансерного спостереження хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу для можливого попередження розвитку аденокарциноми стравоходу шляхом проведення адекватного лікування передракового стану.

Ключові слова: *гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба, метоплазія, дисплазія, морфологія.*

V.V. Gargin, V.V. Sakal

IDENTIFY AND ANALYSIS OF METAPLASTIC AND DYSPLASTIC CHANGES OF ESOPHAGEAL MUCOSA IN GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE

The best ways for identifying of metaplastic and dysplastic changes of the esophageal mucosa with gastroesophageal reflux disease are determined. We examined patients with symptoms of gastroesophageal reflux disease. It was established, that low-grade dysplasia of the epithelium in area of intestinal metaplasia of the esophagus mucosa is characterized by a combination degenerative changes with high expression of p53 and accompanied by increase of the index of apoptosis and proliferation. With the development in the areas of intestinal metaplasia of the esophageal mucosa high-grade dysplasia persists increased expression of p53 and there is a decrease of apoptotic activity. Signs of metaplasia and dysplasia must be used as morphological criteria for the diagnosis of gastroesophageal reflux disease complications. Early diagnosis of dysplasia and metaplasia of the epithelium may be justification for active dispensary observation of patients with gastroesophageal reflux disease for the possible prevention of esophageal adenocarcinoma by means of an adequate treatment of precancerous conditions.

Key words: *gastroesophageal reflux disease, metaplasia, dysplasia, morphology.*

Поступила 10.04.14