

УДК [616.329-002/-08-06]:079.3

ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНАЯ РЕФЛЮКСНАЯ БОЛЕЗНЬ У ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАЮЩИХ ПОЛИХИМИОТЕРАПИЮ: КЛИНИЧЕСКИЕ, ЭНДОСКОПИЧЕСКИЕ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ*

Гриценко Т. А., Давыдкин И. Л., Осадчук А. М., Косталанова Ю. В.

ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ

GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE IN PATIENTS RECEIVING CHEMOTHERAPY: CLINICAL, ENDOSCOPIC, MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES

Gricenko T. A., Davydkin I. L., Osadchuk A. M., Kostalanova Ju. V.

State budget institution of higher professional education «Samara State Medical University» Ministry of Health of the Russian Federation

Гриценко Т. А. — доцент кафедры госпитальной терапии с курсом трансфузиологии Самарского государственного медицинского университета, кандидат медицинских наук, врач — гематолог гематологического отделения клиник Самарского государственного медицинского университета.

Давыдкин И. Л. — заведующий кафедрой госпитальной терапии с курсом трансфузиологии Самарского государственного медицинского университета доктор медицинских наук профессор. Главный внештатный гематолог Министерства здравоохранения Самарской области, директор НИИ гематологии, трансфузиологии и интенсивной терапии Самарского государственного медицинского университета, член координационного совета по донорству при Общественной Палате РФ.

Осадчук А. М. — профессор кафедры госпитальной терапии с курсом трансфузиологии Самарского государственного медицинского университета доктор медицинских наук.

Косталанова Ю. В. — аспирант кафедры госпитальной терапии с курсом трансфузиологии Самарского государственного медицинского университета.

Gricenko T. A. — assistant professor department of the hospital therapy with course transfusion Samara State Medical University, candidate of medical sciences, the hematologist-doctor of Hematology Department clinics of Samara State Medical University.

Davydkin I. L. — head of the Department of hospital therapy with course transfusion Samara State Medical University, doctor of medical sciences, Professor. Chief hematologist of the Ministry of health visiting Samara Oblast, Director of the Research Institute of Haematology and transfusiology and intensive care of the Samara State Medical University, Member of the Coordinating Council for the donation to the public Chamber of the Russian Federation.

Osadchuk A. M. — professor department of the hospital therapy with course transfusion Samara State Medical University, doctor of medical sciences.

Kostalanova Ju. V. — post-graduate student of the hospital therapy with course transfusion Samara State Medical University.

* Иллюстрации к статье — на цветной вклейке в журнал.

Резюме

Цель исследования — определить патогенетическую значимость экспрессии молекул PCNA, Vcl-2, NF-Kb и тахикининов (субстанция P, нейрокинин A) у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ), получающих полихимиотерапию (ПХТ).

Материалы и методы. Всего обследовано 60 пациентов с ГЭРБ, разделенных на 2 равные группы, получающих ПХТ по поводу гемобластозов в стандартной дозе, в течение не менее года. Первую группу составили 30 человек с неэрозивной ГЭРБ (НЭГЭРБ), получающие ПХТ. Вторую группу составили 30 человек с эрозивной формой ГЭРБ (ЭФГЭРБ), получающие ПХТ. Проводилось эндоскопическое, морфологическое и иммуногистохимическое исследование слизистой оболочки пищевода с определением экспрессии молекул PCNA, Vcl-2, нейрокина A, субстанции P и фактора Nf-Kb. У пациентов с рефрактерной формой ГЭРБ к терапии ингибиторами протонной помпы (ИПП), дополнительно назначалась урсодеооксихолевая кислота.

Результаты. У пациентов с НЭГЭРБ, получающих ПХТ в 33,3% случаев формируется рефрактерная к ИПП форма заболевания, при ЭФГЭРБ рефрактерность развивается у 46,7% больных, что ассоциируется с замедлением пролиферации эпителиоцитов слизистой оболочки пищевода (СОП), обусловленной пониженной экспрессией PCNA. Сниженная экспрессия нейрокина A у больных, получающих ПХТ ассоциируется с меньшей степенью активности и интенсивности воспаления СОП. На фоне ПХТ наблюдается высокая степень экспрессии Vcl-2 и фактора Nf-Kb, что может объяснять частое выявление атрофических и метапластических изменений СОП. Назначение урсодеооксихолевой кислоты в комплексной терапии ГЭРБ позволяет преодолеть резистентность к ИПП и улучшить показатели клеточного обновления.

Ключевые слова: Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, полихимиотерапия, Vcl-2, PCNA, нейрокинин A, Nf-kB, субстанция P.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2015; 114 (2):17–23

Осадчук А. М.
Osadchuk A. M.
E-mail:
maxlife2004@mail.ru.

Summary

The purpose of the study. Determine the pathogenetic significance of express molecules PCNA, Bcl-2, NF-Kb and tachykinins (substance P, neurokinin A) in patients with gastroesophageal reflux disease (GERD), receiving polychemotherapy (PCT).

Materials and methods. In total 60 patients were examined with GERD time-divided into 2 equal groups on the receiving PCT Leukemia over standard dose for at least one year. The first group consisted of 30 subjects with non-erosive GERD (NEGERD) endoscopically positive form receiving PCT. The second group consisted of 30 subjects with erosive form of GERD (EFGERD) receiving PCT. Patients underwent endoscopy, morphological and immunohistochemical examination of the esophageal mucosa to the definition expression of molecules PCNA, Bcl-2, neurokinin A, substance P and factor Nf-Kb. In patients with refractory form of GERD to proton pump inhibitors therapy (PPIs), additionally imposed ursodeoxycholic acid.

The results. Patients with NEGERD receiving PCT in 33.3% of cases formed refractory to PPIs form of the disease, when EFGERD refractoriness occurs in 46.7% of patients, which is associated with slowing the proliferation of epithelial cells of the esophagus due to decreased expression of PCNA. Reduced expression of neurokinin A in patients receiving PCT is associated with less activity and intensity of inflammation of esophageal mucosa. Against the background of a high degree of PCT expression of Bcl-2 and factor Nf-Kb, which may explain the frequent detection of atrophic and metaplastic changes in the esophageal mucosa. Appointment of ursodeoxycholic acid in the complex therapy of GERD can overcome resistance to PPIs and improve the performance of cell renewal.

Conclusion. Due to the frequent development of GERD refractory to PPIs in patients suffering from diseases requiring the appointment of long-term courses of PCT requires the appointment of cytoprotective therapy, as that can be used ursodeoxycholic acid.

Keywords. Gastroesophageal reflux disease, chemotherapy, Bcl-2, PCNA, neurokinin A, Nf-kB, substance P.

Ekspiermental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2014; 114 (2):17-23

Введение

Считается, что распространенность гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) в странах Северной Америки и Европы составляет 10–20 %, тогда как в странах Азии около 5 % [1]. В России заболеваемость ГЭРБ соответствует европейской [2,3]. Особую проблему представляет течение и терапия ГЭРБ у пациентов, получающих терапию цитотоксическими и цитостатическими препаратами. Это связано с тем, что в этой группе больных чаще возникают эрозивные формы ГЭРБ, осложнения пептического эзофагита, нередко формируется ГЭРБ, рефрактерная к назначению ингибиторов протонной помпы (ИПП), имеются трудности в проведении дифференциального диагноза между эзофагитами различной природы. Не оставляет сомнения тот факт, что назначение полихимиотерапии (ПХТ) является фактором риска развития ГЭРБ. Показано, что в среднесрочной перспективе применения ПХТ ГЭРБ часто формируется у пациентов, принимающих эрибулин, иматиниб, ипилимумаб, понатиниб, регорафениб и ряд других химиотерапевтических средств [4]. Существует мнение о том, что

возникновение ГЭРБ в данной группе пациентов связано с побочным действием препаратов в виде тошноты и, возможно, рвоты, служащих причиной расслабления нижнего пищеводного сфинктера и заброса содержимого желудка в пищевод. Повреждение слизистой оболочки дистального отдела пищевода кислым содержимым желудка и/или желчью сопровождается изменением экспрессии различных молекул, ответственных за клеточный гомеостаз, таких как PCNA [5], p53 [6], Bcl-2 [7], Nf-Kb [8], нейромедиаторов, индуцирующих воспаление и нарушение перистальтики пищевода (тахикинины) [9,10] и ряда других биологически активных веществ [11]. Их роль в развитии и прогрессировании различных форм ГЭРБ на фоне применения ПХТ не исследовалась. В свою очередь, определение новых механизмов развития данного заболевания позволит повысить качество его прогнозирования.

Цель исследования: определить прогностическую значимость экспрессии молекул PCNA, Bcl-2, NF-Kb и тахикининов (субстанция P, нейрокинин A) у пациентов с ГЭРБ, получающих ПХТ.

Материал и методы исследования

Всего обследовано 60 пациентов с ГЭРБ, разделенных на 2 равные группы, получающих ПХТ по поводу гемобластозов в стандартной дозе, в течение не менее года. Первую группу составили 30

человек с неэрозивной эндоскопически позитивной формой ГЭРБ, получающие ПХТ (НЭГЭРБ_{ПХТ}). Вторую группу составили 30 человек с эрозивной формой ГЭРБ, получающие ПХТ (ЭФГЭРБ_{ПХТ}).

Исследуемые группы составили больные с гемобластомами, находящиеся в периоде полной клинико-гематологической ремиссии заболевания. Группы сравнения составили 30 пациентов с НЭ-ГЭРБ и 30 пациентов с ЭФГЭРБ. Группу контроля составили 30 практически здоровых лиц. В группы пациентов с ЭФГЭРБ вошли больные с А и В степенями эзофагита в соответствии с Лос-Анджелесской классификацией (1994).

В группы обследуемых включались пациенты, у которых удавалось достичь клинико-эндоскопическую ремиссию ГЭРБ.

У пациентов, получающих ПХТ, исключали кандидозный эзофагит, герпетический, цитомегаловирусный и полимикробный эзофагит [12].

В соответствии с существующими рекомендациями всем пациентам с ГЭРБ назначался омепразол в дозе 20 мг 2 раза в сутки в течение 4 недель. При отсутствии эффективности купирования симптомов заболевания в течение 7 дней назначалась двойная доза омепразола по 40 мг 2 раза в сутки, а при отсутствии достаточного клинического эффекта через 7 дней после назначения двойной дозы омепразола диагностировалась рефрактерная форма заболевания и назначалась урсодеооксихолевая кислота в дозе 250 мг перед завтраком и обедом [3].

Диагноз ГЭРБ ставился на основании рекомендаций Монреальского консенсуса [13]. Оценка тяжести симптомов ГЭРБ в динамике заболевания осуществлялась с помощью 5-балльной количественной шкалы Likert. В соответствии с Монреальскими соглашениями (2006), по шкале Likert оценивались наиболее существенные симптомы ГЭРБ: изжога, синдром рефлюксной боли в проекции грудины (связанный с приемом пищи и не связанный с приемом пищи), отрыжка (кислая и воздухом). Максимальная сумма по шкале Likert 15 баллов [13]. Клиническая симптоматика заболевания оценивалась еженедельно. Всем пациентам с ГЭРБ проводилась фиброгастродуоденоскопия (ФГДС), дополненная хромоэндоскопией с метиленовым синим.

Морфологические и иммуногистохимические исследования проводились в НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта в лаборатории патоморфологии под руководством З. Д. Н. РФ, профессора Кветного И. М. Биоптаты забирались из дистального отдела пищевода. Биопсийный материал фиксировали в 10 %-ном нейтральном забуференном формалине (рН 7.2), последующую обработку проводили с помощью автоматической станции проводки материала Leica TP1020 по стандартной методике с изготовлением парафиновых блоков. Для морфологического изучения срезы окрашивали гематоксилином-эозином по стандартной методике. Для иммуногистохимического исследования использовали первичные антитела:

Rabbit polyclonal Anti-NF- κ B p65 antibody «Abcam» (разведение 1:100, время инкубации 1 час при комнатной температуре); Rabbit monoclonal Anti-Substance P antibody «Abcam» (разведение 1:50, время инкубации 1 час при комнатной температуре); Rabbit polyclonal Anti-Neurokinin A antibody «Abcam» (разведение 1:200, время инкубации 1 час при комнатной температуре); Monoclonal Mouse Anti-Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) «DACO» (разведение 1:200, время инкубации 30 минут при комнатной температуре); Monoclonal Mouse Anti-Human BCL2 Oncoprotein «DACO» (разведение 1:100, время инкубации 1 час при комнатной температуре). Для идентификации мелатонина в нейроэндокринных клетках пищевода использовали поликлональную кроличью антисыворотку против мелатонина фирмы CIDResearchInc (титр 1:250).

В качестве негативного контроля производилась иммуногистохимическая реакция без использования первичных антител. Специфичность антител подтверждали в контрольных экспериментах.

Исследования проводились на депарафинизированных и дегидратированных срезах с использованием авидин-биотинового иммунопероксидазного метода. Температурная демаскировка антигенов проводилась с использованием 0,01M цитратного буфера рН=6,0 под давлением. С целью блокады эндогенной пероксидазы стекла помещали в 3% раствор перекиси водорода на 10 минут. Для промывки использовался трис-NaCl-буфер рН 7,6. В качестве вторичных антител использовали антитела конъюгированные с полимером, маркированным пероксидазой (универсальный набор DAKO EnVision™+ System). Визуализацию окрасок проводили с применением комплекса DAB+ и субстратного буфера.

Для оценки результатов иммуногистохимического окрашивания проводили морфометрическое исследование с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Nikon Eclipse E400, цифровой камеры Nikon DXM1200, персонального компьютера на базе Intel Pentium 4 и программного обеспечения «Videotest Morphology 5.2». В каждом случае анализировали 5 полей зрения при увеличении 200x и 400x.

Проводилось измерение двух параметров — оптической плотности и площади экспрессии. Оптическая плотность выражалась в условных единицах (у.е.). Площадь экспрессии рассчитывалась как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения, выраженной в процентах. ФГДС, морфологические и иммуногистохимические исследования выполнялись перед началом лечения и далее после достижения клинико-эндоскопической ремиссии заболевания.

Результаты исследования

Изжога, не менее 2 раз в неделю определялась у всех обследованных пациентов с ГЭРБ и служила поводом для выполнения ФГДС. При сопоставлении интенсивности основных клинических проявлений по шкале Likerty пациентов

с ГЭРБ определялось отсутствие достоверных отличий в выраженности изжоги, отрыжки и боли в проекции пищевода у пациентов во всех группах, как среди пациентов, получающих ПХТ, так и среди больных групп сравнения. При

Таблица 1.

Клинические симптомы различных форм ГЭРБ в динамике заболевания.

Примечание.

Знаком «*» помечены достоверные различия (p<0,05) между исследуемой группой (пациенты с ГЭРБ, получающие полихимиотерапию) и соответствующей группой сравнения.

Клинический признак по шкале Likert	Время от начала терапии, дни	НЭГЭРБ N=30 (100%)	НЭГЭРБ _{пхт} N=30 (100%)	ЭФГЭРБ N=30 (100%)	ЭФГЭРБ _{пхт} N=30 (100%)
Изжога, N=30 (100%)	До лечения	30 (100%)	30 (100%)	30 (100%)	30 (100%)
	7 дней	11 (36,7%)	18 (60%)*	14 (46,7%)	20 (66,7%)*
	14 дней	4 (13,3%)	10 (33,3%)*	6 (20%)	14 (46,7%)*
	28 дней	- (-%)	3 (10%)	- (-%)	6 (20%)*
Отрыжка, N=30 (100%)	До лечения	22 (73,3%)	24 (80%)	25 (83,3%)	28 (93,3%)
	7 дней	7 (23,3%)	12 (40%)*	10 (33,3%)	14 (46,7%)*
	14 дней	2 (6,7%)	7 (23,3%)*	4 (13,3%)	9 (30%)*
	28 дней	- (-%)	2 (6,7%)	- (-%)	4 (13,3%)*
Синдром рефлюксной боли, N=30 (100%)	До лечения	15 (50%)	17 (56,7%)	16 (53,3%)	17 (56,7%)
	7 дней	6 (20%)	8 (26,7%)	8 (26,7%)	11 (36,7%)
	14 дней	1 (3,3%)	5 (16,7%)*	3 (10%)	7 (23,3%)*
	28 дней	- (-%)	1 (3,3%)	- (-%)	2 (6,7%)
Выраженность симптомов по шкале Likert, баллы					
Изжога	До лечения	2,93 ± 0,29	3,23 ± 0,25	3,3 ± 0,26	3,27 ± 0,25
	7 дней	1,47 ± 0,25	1,93 ± 0,32*	1,67 ± 0,3	2,33 ± 0,4*
	14 дней	1,13 ± 0,13	1,37 ± 0,21	1,2 ± 0,15	1,57 ± 0,25*
	28 дней	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,15*
Отрыжка	До лечения	2,37 ± 0,42	2,67 ± 0,46	2,9 ± 0,42	3,33 ± 0,36
	7 дней	1,27 ± 0,19	1,63 ± 0,32*	1,5 ± 0,29	1,73 ± 0,32
	14 дней	1,07 ± 0,09	1,23 ± 0,16	1,2 ± 0,15	1,33 ± 0,2
	28 дней	1,0 ± 0,0	1,07 ± 0,09	1,0 ± 0,0	1,17 ± 0,17
Синдром рефлюксной боли в грудной клетке	До лечения	2,2 ± 0,47	2,43 ± 0,53	2,27 ± 0,48	2,57 ± 0,55
	7 дней	1,23 ± 0,18	1,4 ± 0,27	1,33 ± 0,23	1,47 ± 0,25
	14 дней	1,03 ± 0,07	1,17 ± 0,14*	1,1 ± 0,12	1,3 ± 0,22
	28 дней	1,0 ± 0,0	1,03 ± 0,07	1,0 ± 0,0	1,07 ± 0,09

Таблица 2.

Характер и частота выявления морфологических изменений в слизистой оболочке пищевода у больных с различными формами ГЭРБ.

Примечание.

Знаком «*» помечены достоверные различия (p<0,05) между исследуемой группой (пациенты с ГЭРБ, получающие полихимиотерапию) и соответствующей группой сравнения.

Морфологические изменения СОП при ГЭРБ	НЭГЭРБ N=30 (100%)	НЭГЭРБ _{пхт} N=30 (100%)	ЭФГЭРБ N=30 (100%)	ЭФГЭРБ _{пхт} N=30 (100%)
Отек	15 (50%)	12 (40%)	17 (56,7%)	16 (53,3%)
Инфильтрация мононуклеарами	30 (100%)	30 (100%)	30 (100%)	30 (100%)
нейтрофилами	17 (56,7%)	8 (26,7%)*	23 (76,7%)	11 (36,7%)*
эозинофилами	1 (3,3%)	- (-%)	3 (10%)	- (-%)
Степень инфильтрации				
незначительная	12 (40%)	16 (53,3%)*	7 (23,3%)	16 (53,3%)*
умеренная	12 (40%)	14 (46,7%)	15 (50%)	14 (46,7%)
выраженная	6 (20%)	- (-%)*	8 (26,7%)	- (-%)*
Активность воспаления				
незначительная	17 (56,7%)	8 (26,7%)*	23 (76,7%)	11 (36,7%)*
умеренная	8 (26,7%)	6 (20%)	7 (23,3%)	8 (26,7%)
выраженная	7 (23,3%)	2 (6,7%)*	8 (26,7%)	3 (10%)*
	2 (6,7%)	- (-%)	7 (23,3%)	- (-%)*
Гиперплазия:				
базального слоя эпителия	7 (23,3%)	10 (33,3%)	20 (66,7%)	25 (83,3%)*
поверхностного слоя эпителия	16 (53,3%)	18 (60%)	21 (70%)	23 (76,7%)
Паракератоз	13 (43,3%)	19 (63,3%)*	15 (50%)	22 (73,3%)*
Акантоз	11 (36,7%)	17 (56,7%)*	14 (46,7%)	19 (63,3%)*
Удлинение сосочков	13 (46,7%)	15 (50%)	18 (60%)	21 (70%)
Дистрофия эпителия	13 (46,7%)	19 (63,3%)*	16 (53,3%)	24 (80%)*
Подслизистые кровоизлияния	2 (6,7%)	- (-)	3 (10%)	- (-%)
Атрофия эпителия	3 (10%)	8 (26,7%)*	2 (6,7%)	6 (20%)*
Склероз базальной мембраны	8 (26,7%)	13 (43,3%)*	6 (20%)	10 (33,3%)*
Метаплазия				
Метаплазия желудочная	8 (26,7%)	15 (50%)*	5 (16,7%)	14 (46,7%)*
Метаплазия кишечная	6 (20%)	9 (30%)	4 (13,3%)	8 (26,7%)*
	2 (6,7%)	6 (20%)*	1 (3,3%)	6 (20%)*
Дисплазия легкой степени	1 (3,3%)	2 (6,7%)	- (-%)	2 (6,7%)
умеренной степени	- (-%)	2 (6,7%)	- (-%)	1(3,3%)

обследовании больных в динамике заболевания через 7 дней от начала терапии омега-3 в группах, получающих ПХТ, определялась более частое сохранение клинических симптомов заболевания, что служило поводом для назначения двойных доз препарата. При этом купирование клинических симптомов достигалось у 19 (63,3 %) больных с НЭГЭРБ, у 16 (53,3 %) — с ЭФГЭРБ. В свою очередь, стандартные дозы омега-3 были недостаточно эффективными у 20 (66,6 %) пациентов с ЭФГЭРБ_{пхт} и 18 (60 %) — с НЭГЭРБ_{пхт}. При оценке клинических симптомов по шкале Likert через 7 дней от начала терапии у пациентов, получающих ПХТ, определялся достоверно более высокий балл по шкале Likert по всем анализируемым признакам. Верификация клинических признаков еще через 7 дней, свидетельствовало о том, что в группе пациентов НЭГЭРБ_{пхт} симптомы заболевания сохранялись у 10 (33,3 %) чел., а у больных с ЭФГЭРБ_{пхт} — у 14 (46,7 %) чел. Купирование клинической симптоматики через 4 недели и через 2 недели после назначения урсодиоксихолевой кислоты верифицировалось у 27 (90 %) пациентов с НЭГЭРБ_{пхт} и у 24 (80 %) пациентов с ЭФГЭРБ_{пхт}. При этом у пациентов с НЭГЭРБ, составивших группу сравнения, клиническая симптоматика через 7 дней после назначения двойной дозы омега-3 сохранялась у 4 (13,3 %) и у больных с ЭФГЭРБ у 6 (20 %) чел. Полное нивелирование клинической симптоматики заболевания верифицировалось через 6 недель у всех пациентов с ГЭРБ, получающих ПХТ и через 4 недели у пациентов в группах сравнения (таблица 1).

При морфологическом исследовании биоптатов у пациентов НЭГЭРБ и ЭФГЭРБ определялись в различных пропорциях различные гистологические признаки заболевания, такие как отек, инфильтрация мононуклеарами, нейтрофильными и эозинофильными лейкоцитами, гиперплазия базального и поверхностного слоев эпителия, удлинение сосочков, паракератоз, акантоз, дистрофия эпителия, наличие подслизистых кровоизлияний, склероз базальной мембраны и, в части случаев, метаплазия и дисплазия эпителия СОП. У пациентов с ГЭРБ, получающих ПХТ, достоверно чаще ($p < 0,05$), чем в группах сравнения определялись такие дисрегенераторные изменения СОП, как атрофия, паракератоз, акантоз и метаплазия. Наши данные подтверждают тот факт, что длительная цитостатическая терапия сопровождается высоким риском развития пищевода Барретта [16]. Достоверно чаще у пациентов с ГЭРБ, получающих ПХТ обнаруживался склероз базальной мембраны эпителия. При этом выраженность воспалительных изменений была выше у больных групп сравнения. Так, значительно чаще ($p < 0,05$) обнаруживались нейтрофильная инфильтрация, определяющая активность воспалительного процесса и выраженная мононуклеарная инфильтрация СОП (таблица 2).

Необходимо отметить, что после достижения эндоскопической ремиссии заболевания у 18 (60 %) пациентов с НЭГЭРБ_{пхт} и у 22 (73,3 %) больных с ЭФГЭРБ_{пхт} при морфологическом исследовании

верифицировалась незначительной степени выраженности мононуклеарная инфильтрация СОП, что трактовалось как микроскопический эзофагит. Дисрегенераторные изменения в виде атрофии, метаплазии, акантоза, паракератоза и дисплазии констатировались в том же проценте случаев, что и до назначения лечения. При этом у пациентов с НЭГЭРБ в группе сравнения микроскопические признаки воспаления определялись у 4 (13,3 %), а в группе с ЭФГЭРБ у 6 (20 %) лиц. Дисрегенераторные изменения верифицировались в том же проценте случаев, что и до проведения лечения. Наши данные свидетельствуют о том, что наличие клинической симптоматики ГЭРБ, ее эндоскопические и морфологические проявления могут не полностью соответствовать друг другу. При этом наличие клинико-эндоскопической ремиссии заболевания может сопровождаться персистенцией микроскопического эзофагита [14].

У пациентов с НЭГЭРБ определялось значительное увеличение, как оптической плотности, так и площади экспрессии PCNA. При этом у больных, получающих ПХТ, нарастание площади экспрессии PCNA обнаружено не было. У больных с ЭФГЭРБ также определялось достоверное, увеличение площади экспрессии PCNA, в меньшей степени выраженное у лиц, принимающих цитостатическую терапию. При НЭГЭРБ и ЭФГЭРБ верифицировалось достоверное увеличение площади экспрессии Vcl-2. При этом у лиц, получающих ПХТ, определялись значительно более высокие цифры экспрессии данной молекулы, по сравнению с соответствующим показателем у лиц, страдающих НЭГЭРБ и ЭФГЭРБ и не использующих цитостатическую терапию. У пациентов с обеими формами ГЭРБ в отличие от группы практически здоровых лиц определялась экспрессия субстанции P в СОП. При этом у лиц, принимающих ПХТ также обнаруживалась экспрессия субстанции P, достоверно не отличающаяся от групп сравнения. На фоне повышения экспрессии субстанции P у пациентов с ГЭРБ определялось достоверное снижение показателей экспрессии нейрокина А. При этом, показатели экспрессии нейрокина А в группах пациентов, получающих ПХТ была значительно выше. Также у больных всех групп наблюдалось значительное увеличение показателей экспрессии фактора NF-κB. Достоверно большая степень экспрессии NF-κB верифицировалась в группах пациентов с ГЭРБ, получающих ПХТ (рис. 1–2). В периоде клинико-эндоскопической ремиссии ГЭРБ определялось достоверное улучшение по большинству анализируемых показателей, как в исследуемых, так и в группах сравнения. Необходимо отметить, что для пациентов, получающих ПХТ, в периоде клинико-эндоскопической ремиссии ГЭРБ характерным являлось наличие достоверно более низкого уровня пролиферативной активности эпителия СОП, связанного с экспрессией молекулы PCNA, по сравнению с больными, не принимающими цитостатическую терапию. Также у больных, получающих ПХТ наблюдалось более высокие показатели экспрессии молекул Vcl-2 и фактора NF-κB и нейрокина А (таблица 3).

Таблица 3.

Иммуногистохимические показатели пациентов с различными формами ГЭРБ в динамике заболевания.

Примечание.

Знаком «*» показаны достоверные различия ($p < 0,05$) между группой практически здоровых и пациентами с НЭГЭРБ; знаком «**» показаны достоверные различия ($p < 0,05$) между исследуемой группой и соответствующей группой сравнения; знаком «***» показаны достоверные различия ($p < 0,05$) между периодом, предшествующим назначению лечению и периодом клиничко-эндоскопической ремиссии заболевания; знаком «****» показаны достоверные различия ($p < 0,05$) между группами с НЭГЭРБ и ЭФГЭРБ до назначения терапии.

Показатель		Практически здоровые N=30	НЭГЭРБ N=30	НЭГЭРБ _{пхт} N=30	ЭФГЭРБ N=30	ЭФГЭРБ _{пхт} N=30
PCNA	О.Р.	0,093±0,006	0,248±0,011* 0,146±0,011***	0,124±0,011** 0,107±0,066	0,183±0,013**** 0,154±0,013***	0,129±0,015** 0,114±0,009
	%	11,33±0,53	15,7±0,68* 13,16±0,29***	11,93±0,81** 10,76±0,41***	21,1±1,17**** 14,56±0,34***	16,2±0,7** 11,24±0,51***
Vcl-2	О.Р.	0,073±0,006	0,082±0,005 0,079±0,008	0,102±0,006** 0,094±0,009	0,094±0,007**** 0,088±0,009	0,12±0,011** 0,104±0,01
	%	2,4±0,17	2,9±0,2* 2,67±0,18	4,1±0,21** 3,78±0,13***	3,11±0,22 2,93±0,24	4,34±0,24** 3,8±0,18***
Нейрокин А	О.Р.	0,103±0,005	0,100±0,006 0,103±0,006	0,102±0,006 0,101±0,008	0,113±0,009 0,107±0,009	0,103±0,01 0,105±0,011
	%	33,8±1,2	30,82±1,48* 31,17±0,84	23,8±1,19** 28,59±0,86***	32,42±1,13 31,4±1,12	24,2±1,12** 28,94±1,67***
Субстанция Р	О.Р.	-	0,093±0,007* 0,052±0,013***	0,102±0,009 0,064±0,015***	0,083±0,009 0,048±0,015***	0,093±0,01 0,053±0,013***
	%	-	1,13±0,13* 0,76±0,21***	1,31±0,14 0,92±0,19***	1,52±0,12**** 1,18±0,21***	1,63±0,13 1,08±0,19***
Фактор NF-kB	О.Р.	0,073±0,009	0,103±0,009* 0,082±0,011***	0,094±0,01 0,083±0,11	0,082±0,01**** 0,087±0,012	0,104±0,1** 0,091±0,11
	%	1,64±0,13	3,25±0,15* 2,58±0,17***	4,42±0,2** 3,23±0,22***	3,45±0,21 2,98±0,24***	4,95±0,22** 3,62±0,21***

Обсуждение полученных результатов

Наши данные свидетельствуют о том, что в основе замедленной эволюции клиничко-эндоскопической картины ГЭРБ и формирования рефрактерности к лечению стандартными схемами терапии ИПП у пациентов, принимающих цитостатическую терапию, лежит сниженные показатели пролиферативной активности эпителия СОП, ассоциированной с низкой степенью экспрессии PCNA. При этом у больных с ГЭРБ, получающих ПХТ определяются более низкие показатели экспрессии нейрокина А, являющегося важным маркером воспалительной реакции, а при морфологическом исследовании СОП верифицируются меньшая степень и активность воспалительного процесса. С другой стороны, у больных с ГЭРБ, получающих ПХТ определяются высокие показатели экспрессии Vcl-2 и фактора NF-kB, служащих предиктором быстрого прогрессирования нарушения процессов клеточного гомеостаза в сторону атрофии и метаплазии эпителия, затрудняющих восстановление СОП на фоне лечения ИПП. Терапия больных с ГЭРБ, получающих ПХТ, свидетельствует о замедленной эволюции, как клиничко-эндоскопических, так и морфологических и иммуногистохимических показателей. При этом, назначение урсодоксихолевой кислоты больных с ГЭРБ, получающих ПХТ, позволило добиться клиничко-эндоскопической ремиссии у 10 (33,3%) пациентов с катаральным эзофагитом и у 14 (46,7%) с эрозивным эзофагитом, что объяснялось цитопротективным эффектом

препарата [15]. В периоде клиничко-эндоскопической ремиссии у пациентов с НЭГЭРБ и ЭФГЭРБ экспрессия молекулы PCNA остается повышенной, а у больных с ГЭРБ, получающих ПХТ — нормализуется. Также у пациентов с ГЭРБ, получающих ПХТ, остается на высоком уровне экспрессия молекул Vcl-2 и фактора NF-kB, ассоциирующихся с высокой частотой обнаружения дисрегенераторных изменений в СОП и подтверждает точку зрения о том, что цитостатическая терапия способна достаточно в короткий срок привести к возникновению пищевода Барретта [16]. При этом экспрессия нейрокина А остается сниженной, в большей степени, в группах пациентов, получающих ПХТ.

У пациентов с ГЭРБ, получающих ПХТ, часто развивается резистентность к ИПП (у 33,3% пациентов с НЭГЭРБ и у 46,7% — с ЭФГЭРБ), атрофические (у 26,7% пациентов с НЭГЭРБ и у 20% — с ЭФГЭРБ) и метапластические изменения СОП (у 50% лиц с НЭГЭРБ и у 46,7% — с ЭФГЭРБ), ассоциирующиеся с нарушением экспрессии молекул (Vcl-2, фактора NF-kB, PCNA), регулирующих клеточный гомеостаз. Назначение урсодоксихолевой кислоты в этих группах пациентов позволяет преодолеть резистентность заболевания к ИПП и улучшить показатели клеточного обновления эпителиоцитов СОП, что диктует необходимость применения цитопротективных препаратов в схеме терапии ГЭРБ у лиц, получающих ПХТ.

Литература

1. Dent J., Serag H., Wallander M., Johansson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: A systematic review. *Gut*, 2005, vol. 54, pp. 710–717.
2. Лазебник Л. Б., Машиарова А. А., Бордин Д. С., Васильев Ю. В. и соавт. Многоцентровое исследование «Эпидемиология гастроэзофагеальной рефлюксной болезни в России (МЭГРЕ): первые итоги». *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, 2009, № 6, С.4–12.
3. Маев И. В., Дичева Д. Т., Андреев Д. Н. Подходы к индивидуализации лечения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. Эффективная фармакотерапия. *Гастроэнтерология*, 2012, № 4, С. 18–22.
4. Dougherty L., McWhirter A. Handbook of systemic treatments for cancer. 8 th edition. Guidelines for the administration of commonly used anticancer agents and the nursing care of cancer patients.— London, 2014, 186 p.
5. Hritz I., Herszényi L., Molnár B., Tulassay Zs. Alterations of proliferating cell nuclear antigen and p53 expressions in the reflux esophagitis-metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence of the esophagus. *Z Gastroenterol*, 2005, vol.43, pp.477–529.
6. Осадчук А. М., Палушкина М. Г., Давыдкин И. Л., Кветной И. М. Совершенствование терапии гастроэзофагеальной рефлюксной болезни: клинические, эндоскопические и иммуногистохимические особенности вмешательства. *Медицинский альманах*, 2013, № 1 (25), С. 32–36.
7. Katada N., Hinder R. A., Smyrk T. C., Hirabayashi N. et al. Apoptosis is inhibited early in the dysplasia-carcinoma sequence of Barrett esophagus. *Arch Surg*, 1997, vol. 132, pp. 728–733.
8. Hormi-Carver K., Zhang X., Zhang H. Y., Whitehead R. H. et al. Unlike esophageal squamous cells, Barrett's epithelial cells resist apoptosis by activating the nuclear factor-kappaB pathway. *Cancer research*, 2009, vol. 69, no. 2, pp. 672–677.
9. Daoui S., Agostino B., Gallelli L., Emonds X. et al. Tachykinins and airway microvascular leakage induced by HCl intra-oesophageal instillation. *Eur Respir J*, 2002, vol. 20, pp. 268–273.
10. Geppetti P., Trevisani M. Activation and sensitisation of the vanilloid receptor: role in gastrointestinal inflammation and function. *Br J Pharmacol*, 2004, vol.141, no. 8, pp.1313–1320.
11. Козлова И. В., Кветной И. М., Славкина Е. А., Пахомова А. Л. Клинико-диагностическое значение гастроэзофагеального рефлюкса и структурных изменений пищевода и желудка при бронхиальной астме. *Клиническая медицина*, 2006, Т. 84, № 1, С.34–37.
12. Shafi M. A., Bresalier R. S. The Gastrointestinal Complications of Oncologic Therapy. *Gastroenterol Clin N Am*, 2010, vol. 39, pp. 629–647.
13. Vakil N., van Zanten S. V., Kahrilas P., Dent J., Jones R. and the Global Consensus Group. Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am. J. Gastroenterol*, 2006, vol. 101, pp. 1900–1920.
14. Focca R., Riddell R., Takubo K. Microscopic esophagitis: interobserver consistency using consensus-based criteria. *Gut*, 2007. vol. 56 (suppl. III), p. 75.
15. Marzioni M., Francis H., Benedetti A., Ueno Y. et al. Ca²⁺-Dependent Cytoprotective Effects of Ursodeoxycholic and Tauroursodeoxycholic Acid on the Biliary Epithelium in a Rat Model of Cholestasis and Loss of Bile Ducts. *Am J Pathol*, Feb 2006, vol. 168, no 2, pp.398–409.
16. Bani-Hani K.E., Bani-Hani B. K. Pathogenesis of columnar-lined esophagus. *R World J Gastroenterol*, 2006 March 14, vol.12, no 12, pp.1521–1528.

К статье

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у пациентов, получающих полихимиотерапию: клинические, эндоскопические, морфологические и иммуногистохимические особенности (стр. 17–23).

Рисунок 1.

Катаральный эзофагит, экспрессия NF-κB, иммуногистохимический метод. Увеличение ×400

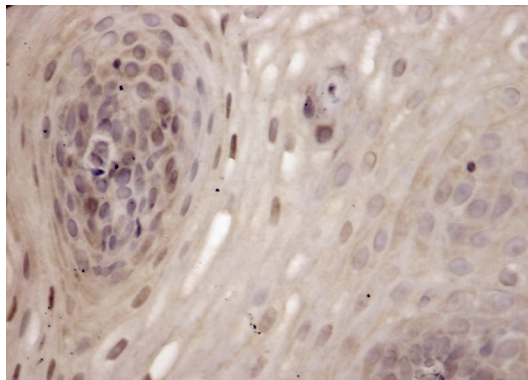


Рисунок 2.

Увеличение экспрессии NF-κB у пациента с катаральным эзофагитом, получающим полихимиотерапию. Иммуногистохимический метод. Увеличение ×400

