

Клинико-диагностические критерии пищевода Барретта и аденокарциномы пищевода

ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, кафедра терапии ФПК и ППС

Научный руководитель: д.м.н., доцент Липатова Т.Е.

Резюме

Цель исследования - определение клинико-эндоскопических и морфологических особенностей пищевода Барретта (ПБ) и аденокарциномы пищевода (АКП), изучение роли эпителиоцитов пищевода, иммунопозитивных к синтазе оксида азота и эндотелину-1, в формировании аденокарциномы пищевода (АКП). Обследованы 67 пациентов с пищеводом Барретта и 43 пациента с аденокарциномой пищевода. Применены клинические, эндоскопические, морфологические, иммунологические методы исследования. Представлена клинико-эндоскопическая и морфологическая характеристика АКП, подтверждена ее тесная связь с ПБ. Выявлены различия между количественной плотностью клеток пищевода, продуцирующих синтазу оксида азота и эндотелин-1, у пациентов с пищеводом Барретта и у пациентов с аденокарциномой пищевода.

Ключевые слова: пищевод Барретта, аденокарцинома пищевода, дисплазия, эндотелин-1, синтаза оксида азота, пролиферация

Введение

Пищевод Барретта (ПБ) — осложнение гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, при котором многослойный плоский эпителий пищевода замещается специализированным кишечным эпителием и рассматривается в настоящее время как предраковое состояние в связи с высоким риском развития аденокарциномы пищевода (АКП) [2,3]. Метаплазия эпителия пищевода становится следствием повреждения эпителиоцитов агрессивным рефлюккатом, содержащим соляную кислоту, пепсин или желчные кислоты. Процессы репарации пищеводного эпителия в условиях низкого pH сопровождаются нарушением дифференцировки стволовых клеток, что ведет к появлению метаплазированного цилиндрического эпителия, более устойчивого к воздействию кислоты [4]. Ранняя диагностика АКП, несмотря на ставшие классическими алгоритмы обследования, остается трудно решаемой проблемой. В последние годы интенсивно идут поиски маркеров риска кишечной метаплазии эпителия пищевода и дисплазии в эпителии Барретта. Рассматривается возможность использования в качестве таких маркеров клеток диффузной нейроэндокринной системы и продуцируемых ими гормонов и медиаторов. Внимание исследователей привлекают регуляторные молекулы и соединения - оксид азота, эндотелин-1, мелатонин и факторы роста, участвующие в контроле микроциркуляции, регенерации, в ангиогенезе в норме и в развитии патологических процессов в пищеводе [1,5].

Цель: определение новых механизмов возникновения пищевода Барретта и аденокарциномы нижней грудной части пищевода на основе анализа клинико-эндоскопических и морфофункциональных данных.

Материал и методы

Обследованы 67 пациентов с пищеводом Барретта и 43 пациентов с аденокарциномой пищевода. Группу сравнения составили 30 пациентов с эрозивной формой ГЭРБ (класс А-В), контрольную группу - 20 практически здоровых лиц. Средний возраст пациентов с ПБ составил - 63,35±0,69 лет, мужчин было 48 (71,6%), в группе пациентов с АКП средний возраст - 70,52±0,73 лет среди них преобладали мужчины – 33 (76,8%).

Критериями исключения пациентов из исследования служили: наличие сопутствующих заболеваний органов пищеварения (язвенной болезни, хронического панкреатита, хронического холецистита в фазе обострения), инфаркта миокарда, опухолей (кроме аденокарциномы пищевода), острого нарушения мозгового кровообращения; отказ больного от обследования.

Для диагностики ПБ после заживления дефектов слизистой оболочки пищевода выполняли хромоэндоскопию с 0,5% раствором метиленового синего с последующей биопсией участков с повышенной абсорбцией красителя. Для верификации ПБ и АКП взятие биопсийного материала осуществляли по 4-квadrантному методу, начиная в гастроэзофагеальном соединении и проксимально каждые 1-2 см к проксимальному краю слизистой Барретта, а также из любого подозрительного участка. Согласно Монреальскому соглашению о классификации ГЭРБ пищевод Барретта верифицировали при обнаружении в биоптатах пищевода кишечной метаплазии неполного типа [Пирогов С.С. и соавт., 2008].

Для обзорного гистологического изучения применяли окраску гематоксилин-эозин. Для идентификации эпителиоцитов пищевода, иммунопозитивных к NO-синтазе, эндотелину-1, использовали иммуногистохимический метод, применяли моноклональные мышиные антитела к NO-синтазе (1:150, Novocastra), эндотелину-1 (Sigma, St. Louis, USA, титр 1:200). Пролиферативную активность эпителиоцитов пищевода изучали иммуногистохимическим методом с применением моноклональных мышиных антител к Ki-67 (1:100, Novocastra), изучали антиапоптозный белок bcl-2 (1:100, Novocastra). Морфометрический анализ проводили с помощью программы компьютерного анализа изображений «Морфология 5.0» (ВидеоТест, Россия). Использовали два количественных показателя - относительную площадь и оптическую плотность экспрессии.

Процессы клеточного обновления изучали непосредственно в эпителии Барретта или опухолевой ткани. Иммуногистохимическое изучение клеток диффузной нейроэндокринной системы проводили в биоптатах слизистой оболочки пищевода вне эрозивно-язвенных изменений, специализированного цилиндрического эпителия или опухоли.

Полученные материалы обрабатывали с использованием статистических пакетов программ «EXCEL» и «Statistical Package for Social Science» (SPSS) version 14.0, применяли критерии достоверности Стьюдента и Манна-Уитни.

Результаты

ПБ клинически проявляется уменьшением существующих в анамнезе симптомов гастроэзофагеального рефлюкса, а в 19,4% случаев протекает бессимптомно, развивается у пациентов с часто (два и более раз в год) рецидивирующей гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ) в течение 5 лет и более. ПБ формируется на фоне длительного закисления дистального отдела

пищевода, дуоденогастроэзофагеального рефлюкса (74,6%) и грыжи пищеводного отверстия диафрагмы (67,1%), сочетается с рефлюкс-эзофагитом преимущественно степени «С»-«D» (65,6%) и стриктурой пищевода (16,4%).

Среди пациентов с ПБ у 40,3% диагноз был установлен при первичном эндоскопическом и гистологическом обследовании. У 59,7% пациентов первоначально диагностирован рефлюкс-эзофагит степени С-D. В этом случае после заживления эрозий выполняли хромоэндоскопию, что позволило выявить участки метплазированной эпителии с последующей гистологической верификацией. На основании эндоскопического и морфологического исследований короткий сегмент ПБ выявлен у 76,1% пациентов, длинный сегмент ПБ – у 23,9% больных.

Установлено, что наиболее типичны для АКП - возраст старше 50 лет, стойкая дисфагия, и ее короткий анамнез (до 6 месяцев). Изжога или преходящая боль за грудиной существовали у 62,8% пациентов от 5 до 17 лет, в среднем – $9,85 \pm 0,43$ лет, что подчеркивает связь гастроэзофагального рефлюкса с АКП. Помимо сугубо «пищеводных» симптомов в клинической картине аденокарциномы пищевода отмечали похудание (83,7%), повышение температуры тела до субфебрильных цифр (23,3%), слабость (76,7%). Важно отметить, что у 37,2% пациентов АКП развивается без предшествующего анамнеза ГЭРБ, что затрудняет проведение скрининга опухоли на ранних стадиях развития.

Среди обследованных больных – 8 (18,6%) пациентов с начальными стадиями заболевания $T_{1-2}N_0M_0$, 35 (81,4%) - с метастатическими стадиями АКП $T_{3-4}N_2M_1$. Специализированная кишечная метаплазия была выявлена у всех пациентов в биоптатах, смежных с опухолевой тканью, или резекционных препаратах АКП. Среди аденокарцином на фоне ПБ по гистологическому строению преобладали высоко (44,2%) и умеренно дифференцированные формы рака (37,2%), реже обнаруживали низкодифференцированные карциномы (14,0%) или муцинозные опухоли (4,6%). В большинстве случаев (86%) в биоптатах, смежных с опухолевой тканью, выявлена дисплазия эпителии Барретта, что подтверждает, что канцерогенез проходит по пути «метаплазия-дисплазия-аденокарцинома».

Установлено, что ПБ характеризуется увеличением площади экспрессии маркера Ki-67 и антиапоптозного фактора bcl-2 по сравнению со значениями при ГЭРБ и ПБ. Таким образом, последовательно от специализированной кишечной метаплазии до АКП нарастает пролиферативная активность клеток (табл. 1). Для пациентов с ПБ типично увеличение площади экспрессии эпителиальных клеток пищевода, иммунопозитивных к синтазе оксида азота и эндотелину-1. При АКП установлена гиперэкспрессия указанных клеток, достоверно превосходящая значения у больных ПБ. Отмечена прямая зависимость между числом клеток пищевода, продуцирующих эндотелин-1, и наличием метастазов опухоли (как в регионарных лимфатических узлах, так и отдаленных) ($r = 0,583$). Единая тенденция изменения клеток пищевода, иммунопозитивных к синтазе оксида азота и эндотелину-1, при пищеводе Барретта и АКП подчеркивает их тесную патогенетическую связь.

Важно, что в ходе исследований изменения количественной плотности клеток, иммунопозитивных к синтазе оксида азота и эндотелину, обнаружены не в пораженной опухолью слизистой оболочке пищевода, а в ткани пищевода, расположенной вне опухоли. Это позволяет рассматривать АКП как универсальный процесс, тесно связанный с нарушением местного нейрогуморального гомеостаза.

Таблица 1. Показатели клеточного обновления и характеристика экспрессии клеток пищевода, иммунопозитивных к эндотелину-1 и синтазе оксида у пациентов с пищеводом Барретта и аденокарциномой пищевода

Показатель		Пациенты с рефлюкс-эзофагитом, n=30	Пациенты с ПБ, n=67	Пациенты с АКП, n=43
Ki-67	площадь экспрессии, %	18,60±1,45	27,55±1,38*	45,59±1,37*#
	опт.плотность экспрессии, опт.ед.	0,33±0,03	0,49±0,05*	0,68±0,03*#
bcl-2	площадь экспрессии, %	10,54±0,83	23,25±2,44*	39,42±1,75*#
	опт.плотность экспрессии, опт.ед.	0,30±0,05	0,55±0,05*	0,62±0,03*#
End-1- иммунопозитивные клетки	площадь экспрессии, %	15,34±0,40	42,77±1,49*#	55,29±1,13*#
	опт.плотность экспрессии, опт.ед.	0,35±0,03	0,56±0,04*	0,74±0,02*#
NO-синтаз-иммунопозитивные клетки	площадь экспрессии, %	21,13±0,34	40,65±1,39*	54,74±0,98*#
	опт.плотность экспрессии, опт.ед.	0,32±0,02	0,50±0,03*	0,69±0,02*#

Примечание: * - показатели имеют достоверные различия со значениями в группе пациентов с ГЭРБ ($p < 0,05$); # - показатели имеют достоверные различия со значениями в группе пациентов с АКП ($p < 0,05$).

Обсуждение

1. Представлена клинико-эндоскопическая и морфологическая характеристика аденокарциномы пищевода, подтверждена ее тесная связь с ПБ. Для аденокарциномы пищевода типично вертикальное распространение через стенку пищевода, по гистологическому строению преобладают высоко и умеренно дифференцированные формы рака, в большинстве случаев в биоптатах, смежных с опухолевой тканью, выявлена дисплазия эпителии Барретта, что подтверждает, что канцерогенез проходит по пути «метаплазия-дисплазия-аденокарцинома».

2. Полученные результаты позволяют отнести гиперплазию клеток пищевода, иммунопозитивных к синтазе оксида азота и эндотелину-1, к факторам риска развития АКП. Дифференциальная диагностика пищевода Барретта и АКП может быть достигнута не только на основании традиционных клинико-эндоскопических и морфологических критериев, но и с учетом результатов иммуногистохимического исследования клеток пищевода, продуцирующих синтазу оксида азота и эндотелин-1.

Заключение

Развитие аденокарциномы пищевода на фоне пищевода Барретта сопровождается повышением экспрессии клеток слизистой оболочки пищевода, продуцирующих NO-синтазу, эндотелин-1. Указанные изменения усугубляются по мере опухолевой прогрессии и метастазирования опухоли.

Литература

1. Кардашева С.С., Трухманов А.С., Демура Т.А. и др. Клиническая картина, факторы риска и иммуногистохимические маркеры при пищеводе Барретта // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 2008. – N3. -С.15-24.
2. Пирогов С.С., Кувшинов Ю.П., Стилиди И.С. и др. Новый взгляд на проблему пищевода Барретта // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 2008. – N3. -С.25-39.
3. Flejou J.F. Barrett's oesophagus: from metaplasia to dysplasia and cancer // Gut. – 2005. – Vol.54, Suppl.1. – P. 6-12i.
4. Lagergren, J. Adenocarcinoma of oesophagus: what exactly is the size of the problem and who is at risk? / J. Lagergren // Gut. – 2005. – Vol.54, Suppl.1. – P.i1-5.
5. Wilson K.T. Angiogenic markers, neovascularization and malignant deformation of Barrett's esophagus // Dis. Esophagus. - 2002. – Vol.15, N1. – P.16-21.