

ПИЩЕВОД БАРРЕТТА: ЭНДОСКОПИЧЕСКИЕ И ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ

Белова Г. В.¹, Мельченко Д. С.¹, Решетова Н. В.¹, Франк Г. А.², Соколов В. В.²

¹ Медицинский центр Центрального банка Российской Федерации

² Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена

Белова Галина Викторовна

Тел.: 8 (916) 634 87 01

E-mail: belovgv@inbox.ru

РЕЗЮМЕ

Пищевод Барретта (ПБ) — одно из наиболее тяжелых осложнений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, которое является облигатным предраком с высоким индексом малигнизации в отношении аденокарциномы пищевода (АП).

Цель работы. Выявить степень предрасположенности к онкогенезу среди пациентов с ПБ, определить группы риска.

Материал и методы. В нашей работе было проведено обследование 55 пациентов с диагностированным ПБ (29 женщин и 26 мужчин в возрасте 39 до 62 лет), из них 40 пациентов с кишечной метаплазией (КМ) и 15 пациентов с КМ + Д длительного течения при наличии адекватной корригирующей терапии. Методом определения степени риска развития АП на фоне ПБ в нашем исследовании являлась ДНК-проточная цитометрия, анализируемыми показателями — индекс пролиферации (ИП) и индекс анеуплоидии.

Результаты: 1) по мере гистологического прогрессирования патологического процесса от метаплазии к дисплазии и АП наблюдается повышение процента анеуплоидии, индекса пролиферации, а также доли клеток, находящихся в S-фазе клеточного цикла; 2) ИП является достаточно стабильным показателем предрасположенности организма к онкогенезу и мало изменяется в результате лечения, индекс анеуплоидии (ИА) является лабильным показателем, который может снижаться до нормальных цифр при адекватно проведенной терапии ($p > 0,05$); 3) наличие повышенного ИА при наличии КМ без дисплазии в пищеводе может служить объективным показателем неопластической прогрессии.

SUMMARY

Barrett esophagus is the most serious sequela of the gastroesophageal reflux disease being an obligate precancer with a high index of the neoplastic transformation as to an adenocarcinoma esophagus.

The purpose of the paper. To reveal the extent of the susceptibility to oncogenesis of the Barrett esophagus-patients and to determine high-risk groups.

Materials and methods. Our paper has shown the examination results of the 55 Barrett esophagus-patients (29 women and 26 men at the age of 39 to 62 years old), including 40 intestinal metaplasia-patients and 15 patients of the intestinal metaplasia + dysplasia of long clinical course given corresponding correcting cure. In our investigation a DNA-flow cytometry was a method of determining the adenocarcinoma esophagus risk secondary to the Barrett esophagus as well as an index of the proliferation and an index of the aneuploidy were the factors analyzed.

The results. 1) as the pathosis histology-progresses from metaplasia to dysplasia and adenocarcinoma esophagus the increase in the aneuploidy rate, the proliferation index, and S-cycling state cells portion is observed; 2) the proliferation index is a rather stable factor of the human body susceptibility to oncogenesis and varies only slightly in the course of the cure. The index of the aneuploidy is a labile factor that can be subject to decrease down to normal figures given corresponding cure ($p > 0.05$); 3) the increased aneuploidy index in the presence of the intestinal metaplasia free of esophagus dysplasia can serve as an objective factor for neoplastic progression.



Согласно Монреальским соглашениям, принятым в рамках Международной гастроэнтерологической недели в 2005 году (Монреаль, Канада), пищевод Барретта (ПБ) отнесен к наиболее грозным осложнениям гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ), поскольку установлена его связь с развитием аденокарциномы пищевода (АП). Это позволяет считать ПБ облигатным предраком с высоким (5–12%) индексом малигнизации (по данным G. D. Wu и соавт., 2003; R. C. Haggitt, A. J. Cameron и соавт., 1995, 2003, 2005).

В настоящее время принято выделять три типа эпителия слизистой оболочки в очагах ПБ [1, 3, 6]: 1) желудочный (фундальный или кардиальный); 2) специализированный кишечный (КМ); 3) кишечная метаплазия с дисплазией легкой/тяжелой степени (КМ + Д $1^{2/3}$) (рис. 1 см. на цветной вклейке).

А. Н. Ormsby и соавт. [11] установили, что, несмотря на схожесть морфологической картины, группы пациентов с КМ и КМ + Д гистохимически являются неоднородными в плане предрасположенности к онкогенезу [9; 11].

Цель работы — выявить степень предрасположенности к онкогенезу среди пациентов с ПБ, определить группы риска.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашей работе было проведено обследование 55 пациентов с диагностированным ПБ (29 женщин и 26 мужчин в возрасте 39 до 62 лет), из них 40 пациентов с КМ и 15 пациентов с КМ + Д длительного течения при наличии адекватной корригирующей терапии.

Все пациенты обследовались в динамике. Алгоритм постановки диагноза, лечения и динамического наблюдения подробно освещен в наших предыдущих работах [2]. Сроки динамического наблюдения соответствовали срокам, разработанным Европейским обществом гастроинтестинальной эндоскопии [6].

Методом определения степени риска развития АП на фоне ПБ в нашем исследовании являлась *ДНК-проточная цитометрия* — метод, позволяющий быстро проанализировать большое число клеточных ядер и определить процентное соотношение клеток в различные фазы клеточного цикла в биопсийном

материале путем программной компьютерной обработки данных [4] как в «свежем» материале, так и в материале из парафиновых блоков. В норме большинство клеток находятся в G0- или G1-фазах клеточного цикла и лишь небольшое количество — в фазе синтеза (S) или постсинтетической (G2) фазе. Сумма клеток в S- и G2-фазах характеризуется как индекс пролиферации (ИП). Долю клеток с различным содержанием ДНК вычисляют как индекс анеуплоидии (ИА). Анеуплоидия связана с процессом хромосомной нестабильности, которая коррелирует с высокой степенью дисплазии и карциномой [8–10].

ИП и ИА определяли в динамике до и после лечения, при этом проспективное исследование было проведено 42 пациентам, ретроспективное — 13. Целью проспективного исследования был выбор метода лечения (консервативный, эндохирургический), а также оценка эффективности проведенного лечения. Целью ретроспективного — определение состояния и динамики показателей ИП и ИА до и после лечения.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с принятыми критериями [8] все полученные до начала лечения гистограммы разделили на четыре типа (табл. 1).

Таким образом, до начала лечения в исследуемой группе преобладали пациенты с анеуплоидией. Соотношение морфологических данных и ИА представлено в табл. 2.

Анализ показателей, приведенных в табл. 2, позволил определить, что у 78,2% обследованных имели место анеуплоидные состояния, выраженные в большей или меньшей степени. Причем наиболее часто отмечалась гипоплоидия. У 41,8% пациентов имело место многокловое состояние ДНК, свидетельствующее о неуправляемой пролиферации.

Согласно данным литературы, ИП в норме меньше 10%, у пациентов с онкопатологией различной локализации этот показатель больше 25%. Важным также является процентное соотношение клеток в фазах синтеза S, в постсинтетической фазе G2

Таблица 1

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА ГИСТОГРАММ ДО НАЧАЛА ЛЕЧЕНИЯ			
Тип гистограммы	ИА	Число пациентов	%
Диплоидная	0,9–1,09	5	9,1
Тетраплоидная	1,85–2,15	6	10,9
Анеуплоидная нететраплоидная	< 1; 1,1–1,84; > 2,15	20	36,4
Анеуплоидная многокловая	—	24	43,6
Всего пациентов	—	55	100

и фазе митоза М. Содержание клеток в S-фазе меньше 6% является благоприятным прогностическим признаком. У пациентов же с показателем $S > 12\%$ высок риск неопластической прогрессии [5]. В *табл. 3, 4* представлены данные соотношения плоидности, пролиферации и клеток в различные фазы клеточного цикла в группах пациентов с КМ и КМ + Д.

Анализ приведенных в *табл. 3* данных показал, что у большинства пациентов в группе КМ средние показатели пролиферации превышали нормальные, однако были ниже порогового значения 25%. Однако у ряда пациентов (7 человек) с анеуплоидным многокловым состоянием ИП превышал показатель 25%, а количество клеток в S-фазе — больше 12%. Это позволило выделить этих пациентов в группу риска и, несмотря на отсутствие дисплазии при морфологическом исследовании биопсийного материала, оптимизировать проводимое лечение, подключив методы эндохирургии.

Согласно приведенным в *табл. 4* данным, изменения плоидности и пролиферации у пациентов с КМ + Д имеют более выраженный характер. У 10 пациентов этой группы ИП $> 25\%$, а количество клеток в S-фазе больше 12%. Наиболее значимые изменения имели место при наличии анеуплоидных многокловых состояний. После курса проведенного лечения, включавшего по показаниям как консервативные, так и эндохирургические методы, численное соотношение групп пациентов согласно морфологическим данным, типам гистограмм, а также показателям плоидности и пролиферации изменилось. Численное соотношение пациентов в зависимости от типа гистограмм представлено в *табл. 5*.

После проведенного лечения количество пациентов с анеуплоидией снизилось до 29,1%, стали преобладать пациенты с диплоидным состоянием ДНК. Соотношение морфологических данных и показателя плоидности после лечения представлено в *табл. 6*.

Приведенные данные свидетельствуют об успешности проведенного лечения. Морфологический анализ биопсийного материала показал, что у 8 пациентов удалось купировать признаки Д и у 18 — признаки КМ. Часть пациентов морфологически перешли в группу желудочной метаплазии (ЖМ). Исследование ИА также выявило положительные тенденции: количество пациентов с анеуплоидией сократилось до 16. Именно эти пациенты с сохранившимися, несмотря на проведенные мероприятия, анеуплоидным состоянием могут быть включены в группу риска неопластической прогрессии. В группе пациентов с ЖМ нарушения плоидности отсутствовали. В *табл. 7, 8* представлены данные соотношения плоидности, пролиферации и клеток в различные фазы клеточного цикла в группах пациентов с КМ и КМ + Д после лечения.

Анализ пролиферативной активности в группе пациентов с КМ показал, что и после проведенного лечения этот показатель остается на повышенных цифрах, но ниже предельного значения в 25%. Однако у небольшого числа пациентов с анеуплоидным многокловым состоянием он остается выше 25%. Количество же клеток в S-фазе превышает уровень 12% у всех пациентов с анеуплоидией и у части пациентов с тетраплоидией. Все эти пациенты имеют повышенные риск неопластической

Таблица 2

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ИА В ГРУППАХ ИССЛЕДУЕМЫХ ПАЦИЕНТОВ ДО НАЧАЛА ЛЕЧЕНИЯ, ЧИСЛО (%)					
Группы пациентов	Типы гистограмм				Всего
	диплоидная	тетраплоидная	анеуплоидная нететраплоидная	анеуплоидная многокловная	
КМ	6 (10,9)	6 (10,9)	10 (18,2)	18 (32,7)	40 (72,7)
КМ + Д	—	—	10 (18,2)	5 (9,1)	15 (27,3)
Всего пациентов	6 (10,9)	6 (10,9)	20 (36,4)	23 (41,8)	55 (100)

Таблица 3

СООТНОШЕНИЕ ПЛОИДНОСТИ, ПРОЛИФЕРАЦИИ И ПРОЦЕНТ КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫЕ ФАЗЫ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА У ПАЦИЕНТОВ С КМ ДО ЛЕЧЕНИЯ					
Показатели	Типы гистограмм				Всего
	диплоидная	тетраплоидная	анеуплоидная нететраплоидная	анеуплоидная многокловная	
ИП	8,6+2,2	12,2+2,8	17,4+5,1	21,9+4,2	15,02+3,6
S	3,3 ± 2,8	6,4 ± 3,8	10,3 ± 2,9	11,9+2,0	7,9 ± 2,9
G2 + M	5,3 ± 1,7	5,8 ± 2,1	7,1 ± 2,2	10,0 ± 2,1	7,05 ± 2,02
Всего пациентов	6	6	10	18	40

Таблица 4

СООТНОШЕНИЕ ПЛОИДНОСТИ, ПРОЛИФЕРАЦИИ И ПРОЦЕНТ КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫЕ ФАЗЫ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА У ПАЦИЕНТОВ С КМ + Д ДО ЛЕЧЕНИЯ					
Показатели	Типы гистограмм				Всего
	диплоидная	тетраплоидная	анеуплоидная нететраплоидная	анеуплоидная многокლოновая	
ИП	—	—	21,2 ± 3,4	31,1 ± 5,6	26,1 ± 4,5
S	—	—	12,1 ± 2,5	13,5 ± 3,7	12,8 ± 3,1
G2 + M	—	—	9,1 ± 0,9	17,6 ± 1,9	13,3 ± 1,4
Всего пациентов	—	—	10	5	15

Таблица 5

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА ГИСТОГРАММ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ			
Тип гистограммы	ИА	Число пациентов	%
Диплоидная	0,9 – 1,09	31	56,4
Тетраплоидная	1,85 – 2,15	8	14,5
Анеуплоидная нететраплоидная	< 1; 1,1 – 1,84; > 2,15	10	18,2
Анеуплоидная многокლოновая	—	6	10,9
Всего пациентов	—	55	100

Таблица 6

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ИА В ГРУППАХ ИССЛЕДУЕМЫХ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ, ЧИСЛО (%)					
Группы пациентов	Типы гистограмм				Всего
	диплоидная	тетраплоидная	анеуплоидная нететраплоидная	анеуплоидная многокლოновая	
ЖМ	23 (41,9)	3 (5,45)	—	—	26 (47,3)
КМ	6 (10,9)	3 (5,45)	8 (14,5)	5 (9,1)	22 (40)
КМ + Д	2 (3,6)	2 (3,6)	2 (3,6)	1 (1,8)	7 (12,7)
Всего пациентов	31 (56,4)	8 (14,5)	10 (18,2)	6 (10,9)	55 (100)

Таблица 7

СООТНОШЕНИЕ ПЛОИДНОСТИ, ПРОЛИФЕРАЦИИ И ПРОЦЕНТ КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫЕ ФАЗЫ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА У ПАЦИЕНТОВ С КМ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ					
Группы пациентов	Типы гистограмм				Всего
	диплоидная	тетраплоидная	анеуплоидная нететраплоидная	анеуплоидная многокლოновая	
ИП	14,3 ± 5,6	12,5 ± 4,2	15,3 ± 3,7	21,7 ± 3,4	15,9 ± 4,2
S	4,1 ± 2,3	8,6 ± 5,8	12,4 ± 1,1	13,1 ± 2,0	9,5 ± 2,8
G2 + M	10,2 ± 3,3	3,9 ± 1,6	2,9 ± 2,4	10,0 ± 2,7	6,8 ± 2,5
Всего пациентов	6	3	8	5	22

Таблица 8

СООТНОШЕНИЕ ПЛОИДНОСТИ, ПРОЛИФЕРАЦИИ И ПРОЦЕНТ КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫЕ ФАЗЫ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА У ПАЦИЕНТОВ С КМ + Д В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ					
Группы пациентов	Типы гистограмм				Всего
	диплоидная	тетраплоидная	анеуплоидная нететраплоидная	анеуплоидная многокლოновая	
ИП	6,4 ± 1,2	7,2 ± 2,2	24,1	27,9	16,4 ± 5,4
S	4,2 ± 2,1	5,1 ± 3,2	13,2	15,4	9,5 ± 5,6
G2 + M	2,2 ± 1,6	2,3 ± 2,7	10,9	12,5	7,2 ± 5,1
Всего (число пациентов)	2	2	2	1	7

прогрессии, несмотря на морфологически благоприятный диагноз. Эти данные делают необходимым оптимизировать проводимое этим пациентам лечение, повторно включая эндохирургические методы, несмотря на отсутствие дисплазии. Сроки динамического наблюдения этих пациентов должны быть аналогичны группе КМ + Д.

Анализ пролиферативной активности в группе пациентов с КМ + Д показал большой разброс данных. Так, у пациентов с диплоидным и тетраплоидным состоянием показатели пролиферативной активности и количества клеток в S-фазе были нормальными. У всех этих пациентов имело место дисплазия легкой степени. У одного пациента с анеуплоидным состоянием ИП и количество клеток в S-фазе были выше предельно допустимых уровней в 25 и 12% соответственно. У пациента имело место КМ + Д тяжелой степени, рецидивировавшая несмотря на проводимое интенсивное консервативное лечение и эндохирургические мероприятия (фотодинамическая терапия (ФДТ)). Именно у этого пациента имел место предельно высокий риск неопластической прогрессии как по морфологическим, так и по данным исследования плоидности и пролиферации. В дальнейшем пациенту были проведены повторные курсы ФДТ с положительным эффектом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. По мере гистологического прогрессирования патологического процесса от метаплазии к дисплазии и АП наблюдается повышение процента анеуплоидии, индекса пролиферации, а также доли клеток, находящихся в S-фазе клеточного цикла.

2. ИП является достаточно стабильным показателем предрасположенности организма к онкогенезу и мало изменяется в результате лечения; ИА является лабильным показателем, который может снижаться до нормальных цифр при адекватно проведенной терапии ($p > 0,05$).

3. Наличие повышенного ИА при КМ без дисплазии в пищеводе может служить объективным показателем неопластической прогрессии.

Выявленные изменения могут быть обусловлены обратимым подавлением активности онкогенов при отсутствии нарушений нуклеотидной последовательности ДНК, что характерно для генов, блокирующих клеточную пролиферацию [5; 7].

Проведенный анализ плоидности и пролиферации позволяет значимо прогнозировать клиническое течение каждого отдельного случая и соответственно помочь клиницисту в выработке индивидуальной лечебной тактики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аруин Л. И. Пищевод Барретта и *Helicobacter pylori* // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктोल. — 2000. — Т. 10, № 2. — С. 5–9.
2. Белова Г. В., Соколов В. В., Будзинский А. А. и др. Алгоритм диагностики и лечения пациентов с пищеводом Барретта // Клин. эндоск. — 2008. — Т. 14, № 1. — С. 33–39.
3. Белоус Т. А. Пищевод Барретта: морфологические основы развития // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктोल. — 2002. — Т. 12, № 5. — С. 63–66.
4. Богатырев В. Н. Значение количественных методов исследования: морфометрической проточной цитофлуориметрии в клинической онкоцитологии: дис. ... докт. мед. наук. — М., 1991. — 346 с.
5. Чиссов В. И., Франк Г. А., Белоус Т. А. Предрак желудка // Клин. мед. — 1999. — Т. 77, № 7. — С. 23–26.
6. Giulì R., Siewert J. R., Couturier D. et al. Barrett's esophagus, 250 questions, 250 answers, Vol. 2. — Paris: John Libbey Eurotext, 2003. — 830 p.
7. Keswani R. N., Noffsinger A., Waxman I. et al. Clinical use of p53 in Barrett's esophagus // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. — 2006. — Vol. 15, № 7. — P. 1243–1249.
8. Kimchi E. T., Posner M. C., Park J. O. et al. Progression of Barrett's metaplasia to adenocarcinoma is associated with the suppression of the transcriptional programs of epidermal differentiation // Cancer Res. — 2005. — Vol. 65, № 8. — P. 3146–3154.
9. Lambert R. Upper gastrointestinal tumors // Endoscopy. — 2006. — Vol. 38. — P. 133–136.
10. Morson B. C. General overview of gastrointestinal precancer // Eur. J. Cancer Prev. — 1993. — № 2, Suppl. 2. — P. 5–8.
11. Ormsby A. H., Goldblum J. R., Rice T. W. et al. Cytokeratin subsets can reliably distinguish Barrett's esophagus from intestinal metaplasia of the stomach // Hum. Pathol. — 1999. — Vol. 3, № 30. — P. 288–294.