

На правах рукописи

ЕВСЮТИНА

Юлия Викторовна

**Клинико-морфологические характеристики
гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, рефрактерной к
лечению ингибиторами протонной помпы**

14.01.04 – внутренние болезни

Автореферат

диссертации на соискание

учёной степени кандидата медицинских наук

Москва – 2015 г.

Работа выполнена в ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Трухманов Александр Сергеевич

доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Булгаков Сергей Александрович доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации

Юрнев Георгий Леонидович доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского

Защита состоится «___»_____.2015 года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д.208.040.13 при ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГЦНМБ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 117998, г. Москва, Нахимовский проспект, д. 49 и на сайте www.mma.ru.

Автореферат разослан «___»_____.2015 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Архипова Дарья Евгеньевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) представляет собой одно из самых распространенных заболеваний и по данным последних эпидемиологических исследований клинические и эндоскопические признаки ГЭРБ можно обнаружить у 8-25% населения (El-Serag H.B., 2014). В Российской Федерации распространенность ГЭРБ достигает 12-18% (Маев И.В., 2004; Ивашкин В.Т., 2010).

Несмотря на совершенствование методов диагностики и лечения ГЭРБ, остается очень много неразрешенных вопросов, главным из которых являются пациенты с рефрактерным течением ГЭРБ. У таких больных проводимая терапия не только не приводит к улучшению клинической и эндоскопической картины, а, наоборот, характеризуется прогрессированием болезни и ведет к появлению эрозий, язв пищевода и таких осложнений как, пептическая стриктура пищевода, кровотечения и пищевод Баррета (Трухманов А.С., 2008). Помимо этого, у пациентов с рефрактерной ГЭРБ нарушается качество жизни и снижается работоспособность, что делает это заболевание социально значимым (Юренев Г.Л., 2012).

После установления зависимости заживления эрозивных поражений слизистой оболочки пищевода у больных ГЭРБ от продолжительности повышения внутрипищеводного рН в течение суток и обнаружения способности ингибиторов протонной помпы (ИПП) поддерживать необходимую длительность повышения рН в пищеводе (>4) при ГЭРБ (Bell N.J., 1992) сложилось впечатление, что все проблемы, связанные с лечением данного заболевания, успешно решены. Однако делать такие оптимистичные выводы оказалось преждевременным, ведь по данным последних публикаций, число больных, не ответивших на стандартную дозу ИПП 1 раз в день в течение 8 недель частично или полностью (пациенты с рефрактерной формой ГЭРБ), составляет 40-50% (Bytzer P., 2012; Cicala M., 2013).

В течение долгого времени в качестве основных причин рефрактерного течения ГЭРБ рассматривались: недостаточная приверженность больных к лечению, наличие «ночных кислотных прорывов» и генетически детерминированный полиморфизм изоферментов CYP2C19 и CYP3A4 цитохрома P450 (Булгаков С.А., 2012).

В последнее время проблема рефрактерного течения ГЭРБ стала изучаться на тканевом и клеточном уровне. В основу легла оценка особенностей повреждения слизистой пищевода в зависимости от характера рефлюктата (кислого, желчного или смешанного). Одним из перспективных направлений в этой области является изучение цитокинового профиля у таких пациентов. Цитокины, являясь пептидными сигнальными молекулами, реагируют на повреждение и могут проявлять как провоспалительную, так и противовоспалительную активность (Isomoto H., 2007). Существует ряд работ, свидетельствующих о том, что при ГЭРБ может происходить нарушение иммунного ответа в виде дисбаланса между клеточным (Th1) и гуморальным (Th2) звеньями иммунитета, которое возможно детерминировано экспрессией цитокинов (Kohata Y., 2011; Zhong Y.Q., 2011).

В связи с вышеперечисленными аспектами, представляется актуальным изучение клинических, морфологических, функциональных характеристик, а также иммунного ответа у пациентов с рефрактерной ГЭРБ, что может впоследствии улучшить результаты лечения.

Цель исследования

Изучить клинические, функциональные и морфологические особенности у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, рефрактерной к лечению ингибиторами протонной помпы.

Задачи исследования

1. Изучить особенности клинической картины у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, рефрактерной к лечению ингибиторами протонной помпы.
2. Изучить характер рефлюктата у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, рефрактерной к лечению ингибиторами протонной помпы, на основании анализа данных 24-часовой рН-импедансометрии пищевода.
3. Изучить эндоскопические характеристики у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, рефрактерной к лечению ингибиторами протонной помпы.
4. Изучить морфологические характеристики у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, рефрактерной к лечению ингибиторами протонной помпы.
5. Изучить иммунный ответ организма у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, рефрактерной к лечению ингибиторами протонной помпы.

Научная новизна

В работе проведен комплексный анализ клинических, функциональных, эндоскопических и морфологических характеристик пациентов с ГЭРБ, рефрактерной к лечению ИПП. На его основании были выделены прогностические факторы рефрактерного течения заболевания.

Впервые выявлены корреляционные связи между формой ГЭРБ, показателями 24-часовой рН-импедансометрии пищевода и экспрессией цитокинов.

Выявлен маркер (интерлейкин-8), который может быть использован для определения прогноза течения ГЭРБ.

Научно-практическая значимость работы

Выявленные клинические, функциональные, эндоскопические и морфологические характеристики пациентов с ГЭРБ позволяют на ранних этапах идентифицировать пациентов с рефрактерной формой заболевания и назначить соответствующее лечение.

Выявленная зависимость экспрессии цитокинов от формы ГЭРБ свидетельствуют о развитии Th1-иммунного ответа у пациентов с эрозивно-язвенным эзофагитом и Th2-иммунного ответа у больных с пищеводом Баррета, что позволяет говорить об изменении системного иммунного ответа при ГЭРБ.

Интерлейкин-8, ассоциированный с увеличением частоты рецидивирования эрозивного эзофагита в течение 2 лет, может быть использован в клинической практике для определения прогноза заболевания.

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные результаты исследования внедрены в педагогический и научно-исследовательский процесс на кафедре пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, в лечебно-диагностический процесс Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко УКБ№2 ГБОУ ВПО Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова.

Положения, выносимые на защиту

1. Пациенты с ГЭРБ, рефрактерной к терапии ИПП, по сравнению с пациентами, отвечающими на лечение ИПП, имеют более высокую частоту и интенсивность изжоги (в том числе возникающей ночью), более высокую частоту регургитации кислым, отрыжки горьким и горечи во рту, некоронарогенной боли за грудиной, кашля и осиплости голоса, а также избыточной массы тела и ожирения.

2. У пациентов с ГЭРБ, рефрактерной к терапии ИПП, по сравнению с пациентами, отвечающими на лечение ИПП, обнаруживаются следующие изменения рН-импедансометрических показателей: более значительное замедление объемного клиренса в положении лежа и химического клиренса в положении стоя и лежа, большее число кислых и слабокислых рефлюксов, а также «высоких» (проксимальных) рефлюксов, более продолжительная 24-часовая экспозиция кислого и слабокислого болюсов.
3. У больных с рефрактерным течением ГЭРБ по сравнению с пациентами, отвечающими на терапию ИПП, чаще выявляются признаки эрозивно-язвенного эзофагита, признаки дуоденогастрального рефлюкса и грыжа пищеводного отверстия диафрагмы.
4. При гистологическом исследовании биоптатов слизистой оболочки пищевода у больных ГЭРБ, рефрактерной к терапии ИПП, по сравнению с пациентами, отвечающими на терапию ИПП, чаще определяются высокая активность воспаления, расширение и полнокровие сосудов сосочков собственной пластинки слизистой оболочки и дисплазия эпителия.
5. У пациентов с эрозивно-язвенным эзофагитом преобладает продукция провоспалительных цитокинов ИЛ-8, ИФН- γ и ФНО- α ., свидетельствующая о развитии Th1-иммунного ответа. У пациентов с пищеводом Баррета повышена экспрессия противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10, указывающая на формирование Th2-иммунного ответа организма.
6. Высокий уровень ИЛ-8 ассоциирован с увеличением частоты рецидивирования эрозивного эзофагита в течение 2 лет, несмотря на проводимую терапию, и может быть использован в качестве маркера прогнозирования течения ГЭРБ.
7. Уровень ФНО- α и ИЛ-8 коррелирует с общим количеством кислых рефлюксов и экспозицией кислого болюса, уровень ИЛ-4 и ИЛ-10 – с

общим числом слабощелочных рефлюксов и экспозицией слабощелочного болюса.

Личный вклад автора

Автор принимала непосредственное участие в реализации работы на всех ее этапах. Проводила планирование исследования, поиск и анализ литературы по теме диссертации, физикальное обследование пациентов с ГЭРБ, 24-часовую рН-импедансометрию пищевода, статистическую обработку и анализ полученных результатов. Принимала участие в проведении ЭГДС, морфологического исследования биоптатов и определения уровня цитокинов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.01.04 - внутренние болезни; формуле специальности: внутренние болезни - область медицинской науки, изучающая этиологию, патогенез, семиотику, диагностику, прогноз и профилактику заболеваний внутренних органов; области исследований согласно пунктам 2, 3, 5.

Апробация работы

Апробация диссертационной работы была проведена на научной конференции кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первого МГМУ им И.М. Сеченова 15 декабря 2014 года.

Материалы диссертационной работы доложены на Международном Медицинском Интернет Форуме молодых ученых (Москва, июль 2014 года), научно-практической конференции «Пищевод 2014» (Москва, сентябрь 2014 года), на XX Российской Гастроэнтерологической неделе (Москва, октябрь 2014 года), на 22-ой Европейской Гастроэнтерологической Неделе (Вена, октябрь 2014 года), на международной научно-практической конференции «NeuroGASTRO-2015» (Стамбул, июнь 2015 года), на международной конференции French Group of Neurogastroenterology (Лион, июнь 2015 года).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 4 - в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура работы

Материалы диссертации изложены на 157 страницах машинописного текста. Работа включает: введение, обзор литературы, описание материалов и методов, собственные результаты исследования и их обсуждение, выводы и практические рекомендации. Библиографический указатель содержит 132 источника литературы (29 отечественных и 103 зарубежных авторов). Диссертация иллюстрирована 25 таблицами и 52 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Клиническая часть данной работы была выполнена на базе Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии имени В.Х. Василенко УКБ №2 Первого МГМУ имени И.М. Сеченова. Лабораторная часть исследования (определение уровня циркулирующих цитокинов) проводилась в лаборатории клеточных биотехнологий на базе кафедры патологической физиологии МГМСУ имени А.И. Евдокимова. Протокол исследования был одобрен Локальным Комитетом по этике.

В исследование включались пациенты с доказанной по данным клинической картины и эндоскопического исследования ГЭРБ, которым назначалась терапия ИПП в стандартной дозе не менее чем на 8 недель. В зависимости от ответа на терапию пациенты разделялись на 2 группы: основная группа (ОГ) – пациенты с рефрактерной формой ГЭРБ (полное или частичное сохранение жалоб (изжоги, регургитации, отрыжки кислым, боли в грудной клетке и др.), контрольная группа (КГ) – пациенты, у которых через 8 недель терапии ИПП, отсутствовали соответствующие жалобы.

Критерии включения в исследование: ГЭРБ, доказанная с помощью клинической картины, данных ЭГДС и 24-часовой рН-импедансометрии пищевода; предшествующая терапия с использованием ИПП в стандартной дозе как минимум в течение 8 недель; возраст 18-70 лет.

Критерии исключения из исследования: наличие других заболеваний пищевода, кроме ГЭРБ (ахалазия кардии, опухоли пищевода, грибковые поражения пищевода, термические, химические, инфекционные эзофагиты, дивертикулы пищевода); обострения сопутствующих заболеваний или острые заболевания, имеющие место в предшествующие 14 дней до включения в исследование; беременность, планирование беременности или период лактации; злокачественные новообразования; системные заболевания; тяжелая сопутствующая соматическая патология; наличие противопоказаний для проведения ЭГДС или рН-импедансометрии.

Всем включенным в анализ было проведено **клиническое обследование**, включавшее в себя сбор жалоб и анамнеза, заполнение анкеты для выявления симптомов ГЭРБ и анализа образа жизни пациентов, общий осмотр и определение индекса массы тела (ИМТ).

Лабораторное обследование предполагало определение уровня циркулирующих цитокинов (интерлейкин-2 (ИЛ-2), интерлейкин-4 (ИЛ-4), интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-8 (ИЛ-8), интерлейкин-10 (ИЛ-10), интерферон гамма (ИФН- γ), фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α)) в крови с помощью метода проточной цитофлуориметрии. За референсные значения брались показатели, полученные при исследовании экспрессии цитокинов у 10 здоровых добровольцев, сопоставимых с пациентами ОГ и КГ по полу и возрасту.

Инструментальное обследование включало проведение электрокардиографии (ЭКГ) для исключения тяжелых ишемических изменений миокарда, нарушений ритма и проводимости; **24-часовой рН-импедансометрии пищевода**, эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) с биопсией слизистой оболочки пищевода и последующим морфологическим исследованием

биоптатов. До проведения лабораторного и инструментального обследования пациентам было рекомендовано отменить ИПП за 7 дней.

24-часовая рН-импедансометрия пищевода была проведена лично автором диссертации всем 70 пациентам на аппарате «Гастроскан-ИАМ» (ЗАО НПП «Исток-Система», г. Фрязино). Оценивались следующие показатели: объемный и химический клиренс, количественное распределение рефлюксов по уровню кислотности (кислые, слабокислые, слабощелочные) и составу (жидкие, газовые, смешанные), 24-часовая экспозиция различных типов болюса, индекс симптома и вероятность ассоциации симптома с различными типами рефлюксов. За референсные значения брались показатели, полученные в мультицентровых исследованиях на здоровых добровольцах в странах Европы и США (Shay S., 2004; Zerbib F., 2005).

ЭГДС была проведена с помощью гибкого эндоскопа «Fujinon FG-1Z» (Япония) натощак по стандартной методике с анестезией 10% раствором лидокаина 70 пациентам. Для характеристики изменений слизистой пищевода применялась классификация Savary-Miller (1978) в модификации Carisson и соавт. (1996) и клинико-эндоскопическая классификация, принятая на IX Европейской гастроэнтерологической неделе в Амстердаме. Для морфологического исследования во время ЭГДС производился забор биоптатов из дистального отдела пищевода по схеме: 4 фрагмента из участков слизистой оболочки, расположенных на 12, 3, 6, 9 часах на 2 см выше Z-линии, а также из отдельных очагов поражения слизистой оболочки пищевода.

С целью диагностики грыжи пищеводного отверстия диафрагмы (ГПОД) пациентам, у которых при ЭГДС обнаруживался пролапс слизистой оболочки желудка в пищевод, проводилась **рентгеноскопия пищевода с контрастированием** (48 больных).

Морфологическое исследование биоптатов было выполнено 42 пациентам. Парафиновые срезы готовили традиционным методом, окрашивали гематоксилином и эозином. Для повышения вероятности выявления кишечной метаплазии, использовалась окраска препаратов красителем альциановым

синим с $pH=2,5$. При изучении биоптатов оценивались такие характеристики как: степень выраженности воспаления и активность воспалительного процесса. При этом учитывались выраженность инфильтрации лимфоплазмоцитарными элементами и полиморфноядерными лейкоцитами, наличие лейкопедеза эпителия и очагов интраэпителиальных лимфоцитов, расширение и полнокровие сосудов сосочков собственной пластинки слизистой оболочки; тип эпителия, представленного в микропрепарате; наличие метаплазии и дисплазии; гиперплазия базальных клеток; склероз базальной мембраны; удлинение сосочков.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась лично автором диссертации при помощи пакета программ статистической обработки данных R. Качественные признаки описывались с помощью абсолютных и относительных (%) показателей, $M \pm SD$ (среднее арифметическое \pm среднее квадратическое отклонение). Количественные – с помощью медианы, 25, 75 и 95 перцентилей. Для оценки статистической достоверности различий между группами применяли t-критерий Стьюдента для независимых и зависимых выборок (при нормальном характере распределения), критерий Вилкоксона (при распределении отличном от нормального), точный критерий Фишера (одно- или двусторонний). Для проведения многофакторного анализа использовался точный критерий Фишера. Статистически значимым уровнем различий считали вероятность не менее 95% ($p < 0,05$). При проведении корреляционного анализа использовались τ -корреляции Кендала (ранговые показатели) или τ -корреляции Спирмана (порядковые показатели).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ОГ вошли 21 мужчина (60,0 %) и 14 женщин (40,0%), в КГ – 19 мужчин (54,2%) и 16 женщин (45,8%). Средний возраст обследованных составил $46,5 \pm 12,3$ и $44,8 \pm 13,5$ года, соответственно. Средний ИМТ пациентов в ОГ был равен $25,61 \pm 3,87$ кг/м², в КГ - $23,72 \pm 3,44$ кг/м², что свидетельствовало о

большой частоте избыточной массы тела и ожирения в группе пациентов с рефрактерной формой ГЭРБ по сравнению с КГ ($p=0,03$).

У пациентов ОГ и КГ проводился тщательный анализ **клинической картины заболевания**, который позволил выделить пищеводные, внепищеводные и диспепсические жалобы, а также сопутствующие заболевания, особенности питания и образа жизни пациентов (Таблица 1).

Таблица 1 – Клинические характеристики пациентов основной и контрольной групп

Показатель	ОГ	КГ	p
Частота изжоги 4-7 раз в неделю	17 (48,5%)	5 (14,2%)	0,004
Интенсивная изжога	22 (62,8%)	3 (8,5%)	<0,0001
Ночная изжога	19 (54,2%)	7 (20,0%)	0,005
Исчезновение изжоги после приема антацидов/альгинатов	7 (20,0%)	28 (80,0%)	<0,0001
Регургитация кислым	33 (94,2%)	23 (65,7%)	<0,0001
Отрыжка кислым	28 (80,0%)	11 (31,42%)	<0,0001
Некоронарогенная боль за грудиной	26 (74,29%)	13 (37,15%)	<0,0001
Кашель	6 (17,14%)	0 (0,0%)	<0,0001
Осиплость голоса	4 (11,43%)	0 (0,0%)	<0,0001
Отрыжка горьким	22 (62,8%)	13 (37,15%)	0,038
Чувство горечи во рту	20 (57,14%)	7 (20,0%)	0,0005
Табакокурение	11 (31,43%)	4 ((11,43%)	0,008
Прием пищи менее, чем за 2 часа до сна	29 (82,86%)	16 (45,71%)	0,001
Избыточная масса тела/ожирение	22 (62,85%)	12 (34,28%)	0,03

Анализ клинической картины заболевания показал, что изжога являлась самым распространенным симптомом и встречалась у всех пациентов ОГ и КГ. При этом ее частота достоверно различалась между группами, так изжога, возникавшая 4-7 раз в неделю, наблюдалась у 48,5% больных ОГ и лишь у 14,2% пациентов КГ. Помимо частой и интенсивной изжоги, а также ночной изжоги, к факторам, предопределяющим рефрактерное течение ГЭРБ, можно отнести наличие других пищеводных симптомов ГЭРБ (регургитации и отрыжки кислым, некоронарогенной боли за грудиной), внепищеводных симптомов (кашля, осиплости голоса) и диспепсических жалоб (отрыжки горьким и чувства горечи во рту).

Необходимо отметить, что дискинезия желчевыводящих путей встречалась достоверно чаще у пациентов, рефрактерных к лечению ИПП (p=0,02). Это может объясняться тем, что нарушение моторики желчевыводящих путей и желчного пузыря, приводящее к неравномерному, а порой и избыточному поступлению желчи в двенадцатиперстную кишку, способствует развитию дуоденогастроэзофагеального рефлюкса (ДГЭР), который невозможно полностью устранить с помощью антисекреторных препаратов.

В настоящем исследовании у пациентов с ГЭРБ была проведена комплексная оценка данных **24-часовой рН-импедансометрии пищевода** (Рисунок 1).

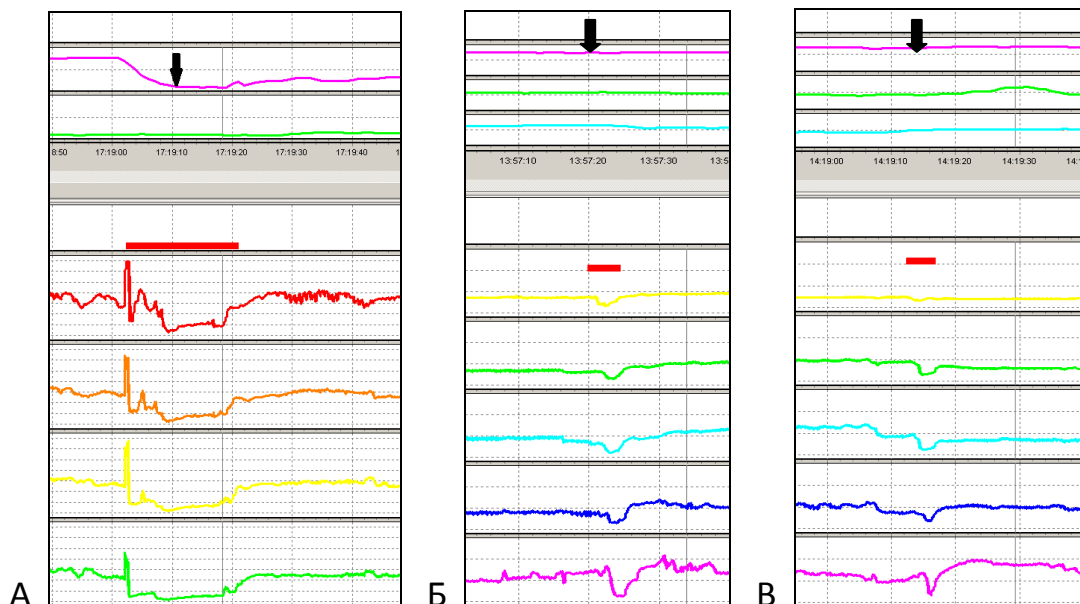


Рисунок 1 – Фрагменты графика рН-импедансометрии пищевода:

А Эпизод кислого жидкого рефлюкса (в момент ГЭР, зафиксированного датчиками импеданса (красная черта), значение рН в пищеводе снижается с 6.9 до 1.0 (черная стрелка))

Б Эпизод жидкого слабокислого рефлюкса (в момент ГЭР, зафиксированного датчиками импеданса (красная черта) значение рН в пищеводе не опускается ниже 4 единиц (черная стрелка))

В Эпизод слабощелочного жидкого рефлюкса (в момент ГЭР, зафиксированного датчиками импеданса (красная черта), значения рН в пищеводе становится 7.1 (черная стрелка))

Анализ данных 24-часовой рН-импедансометрии позволил выявить у пациентов с ГЭРБ, рефрактерной к терапии ИПП, ряд особенностей, предопределяющих рефрактерное течение заболевания (Таблица 2).

Таблица 2 –Показатели 24-часовой рН-импедансометрии пищевода) пациентов основной и контрольной групп, Медиана (25-75) 95 процентиль

Показатель	ОГ	КГ	p
Объемный клиренс, общий (с)	26,41 (23,3-31,7) 39,83	21,97 (15,68-30,26) 38,82	0,158
Объемный клиренс, стоя (с)	26,24 (20,9-31,2) 38,23	23,06 (14,27-30,53) 41,73	0,494
Объемный клиренс, лежа (с)	31,03 (19,08-37,82) 52,35	17,13 (11,14-26,42) 44,54	0,009
Химический клиренс, общий (с)	81 (57-106) 140,5	39 (31-63,5) 83,3	<0,0001
Химический клиренс, стоя (с)	57 (40,5-80) 107,1	28 (24,5-51,5) 69,5	<0,0001
Химический клиренс, лежа (с)	112 (79-178) 214,5	47 (34-74) 92,1	<0,0001
Кислые рефлюксы (КР) дистальные, общее число	38 (26-78) 111	25 (15-45) 57	0,003
КР проксимальные, общее число	8 (5-15) 28	3 (2-7) 10	0,0003
Слабокислые рефлюксы (СКР) дистальные, общее число	24 (16-33) 68	14 (7-19) 49	0,028
Слабокислые рефлюксы (СКР) проксимальные, общее число	3 (2-7) 16	2 (1-6) 11	0,037
Слабощелочные рефлюксы (СЩР) дистальные, общее число	3 (0-11) 50	0 (0-7) 27	0,148
Слабощелочные рефлюксы (СЩР) проксимальные, общее число	1 (0-2) 13	0 (0-1) 5	0,377
24-часовая экспозиция кислого болюса (%)	2,47 (1,59-5,36) 8,14	1,57 (1,09-2,08) 3,85	0,004
Обобщённый показатель DeMeester	9,84 (4,03-20,6) 69,52	4,13 (9,84-11,83) 17,59	0,01
24-часовая экспозиция слабокислого болюса (%)	1,64 (0,66-2,2) 5,41	0,6 (0,28-1,27) 3,06	0,028
24-часовая экспозиция слабощелочного болюса (%)	0,08 (0,0-0,64) 2,91	0,0 (0,0-0,28) 1,57	0,196
Положительный индекс симптома с КР	10 (28,5%)	8 (22,8%)	0,82
Положительная вероятность ассоциации симптома с КР	11 (31,4%)	8 (22,8%)	0,82
Положительный индекс симптома с некислыми рефлюксами (НКР)	15 (42,8%)	5 (14,2%)	0,01
Положительная вероятность ассоциации симптома с НКР	14 (40,0%)	5 (14,2%)	0,01

У пациентов ОГ, по сравнению с больными КГ, отмечается замедление химического клиренса вне зависимости от положения тела (стоя 57 с и 28 с; лежа 112 с и 47 с, соответственно) и замедление объемного клиренса в горизонтальном положении (31,03 с и 17,13 с). Такие изменения свидетельствуют о нарушении первичной и вторичной перистальтики пищевода, что является одним из патогенетических факторов развития ГЭРБ. У

пациентов ОГ, по сравнению с больными КГ, было достоверно выше число дистальных и проксимальных («высоких») кислых и слабокислых рефлюксов, а также оказалась повышенной 24-часовая экспозиция кислого и слабокислого болюсов. Эти данные говорят о том, что помимо соляной кислоты, которая отрицательно воздействует на слизистую пищевода, важную роль в повреждении играют и компоненты желчи. Подтверждением взаимосвязи между не кислыми рефлюксами и основным симптомом ГЭРБ – изжогой – служат выявленные положительный индекс симптома и положительная ассоциация симптома со слабокислыми рефлюксами. Таким образом, у пациентов с рефрактерной ГЭРБ имеет место повышение числа кислых и слабокислых рефлюксов и нарушение перистальтической активности пищевода, что сопровождается увеличением времени нахождения кислого и слабокислого болюсов в пищеводе.

При проведении ЭГДС пищевода в ОГ у 31% больных была диагностирована неэрозивная рефлюксная болезнь (НЭРБ), у 55% - эрозивно-язвенный эзофагит и у 14% пациентов пищевод Баррета. В КГ эти формы ГЭРБ встречались соответственно, в 72%, 14% и 14% случаев. При этом различия между количеством пациентов с НЭРБ и эрозивно-язвенным эзофагитом в основной и контрольной группах достигли статистической значимости ($p < 0,0001$). Косвенные признаки дуоденогастрального рефлюкса достоверно чаще встречались у пациентов ОГ (71,2% vs. 42,8%; $p = 0,013$).

По данным рентгенологического исследования ГПОД определялась у 65% пациентов ОГ и 37% больных КГ; $p = 0,03$. При этом она была обнаружена у 100% пациентов с ожирением и у 65% больных с избыточной массой тела.

Очень мало исследований посвящено сравнению гистологической картины у больных с рефрактерной формой ГЭРБ и пациентов, отвечающих на терапию ИПП.

После проведенного анализа данных **морфологического исследования**, оказалось, что у всех пациентов были выявлены той или иной степени воспалительные изменения. Это подтверждает наличие у больных с НЭРБ

гистологических признаков воспаления даже при отсутствии эндоскопических изменений. При этом активность воспаления, определяемая по степени нейтрофильной инфильтрации, была достоверно выше у пациентов ОГ по сравнению с больными КГ ($p=0.0002$). У большинства больных, ответивших на терапию (80%), наблюдалась 1-ая степень активности воспаления, тогда как у пациентов ОГ преобладали 2-ая и 3-ья степени активности – в 54% и 27% случаев, соответственно (Рисунок 2А). Большая активность воспалению у больных с рефрактерной формой ГЭРБ, подтверждается и более частым выявлением у них полнокровия и расширения сосудов сосочков собственной пластинки слизистой (81% vs. 50%; $p=0,048$) (Рисунок 2Б). Мы объясняем такие результаты тем, что в ОГ у больных преобладали эрозивно-язвенные поражения слизистой пищевода, при которых активность воспаления значительно превосходит таковую у лиц с НЭРБ.

Оценка изменений слизистой оболочки пищевода показала, что кишечная метаплазия встречалась с одинаковой частотой у больных обеих групп (25% в ОГ и 18,1% в КГ; $p=0,9$), тогда как дисплазия была обнаружена только у пациентов с рефрактерной формой ГЭРБ (у всех она имела низкую степень) ($p=0,01$) (Рисунок 2В).

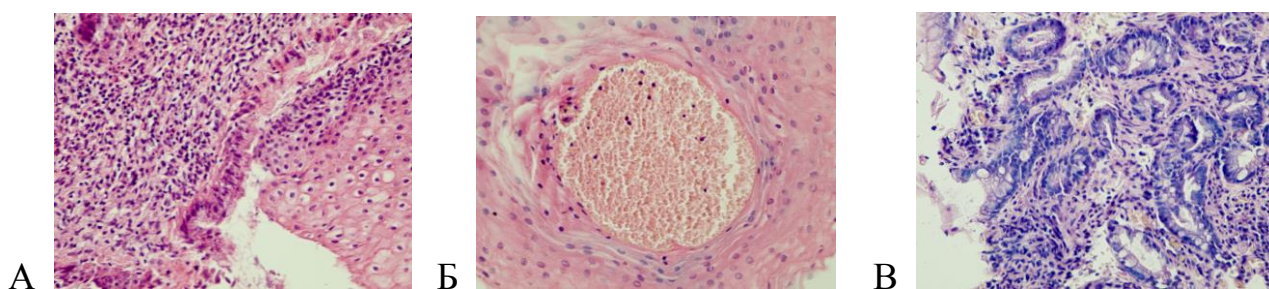


Рисунок 2 – Морфологические изменения слизистой оболочки пищевода у пациентов основной группы:

А Выраженная активность воспаления с очаговым лейкопедезом эпителия, окраска гематоксилином и эозином, х400

Б Полнокровие и расширение сосудов сосочков собственной пластинки слизистой, окраска гематоксилином и эозином, х400

В Дисплазия низкой степени у пациента с пищеводом Баррета, окраска альциановый синий +ШИК-реакция, х400

Важно отметить, что дисплазия и кишечная метаплазия диагностировались у пациентов с длительным (3 года и более) анамнезом ГЭРБ. Таким образом,

рефрактерное течение заболевания может предопределяться уже состоявшейся перестройкой эпителия. Поэтому при неэффективности антисекреторной терапии в течение длительного периода времени при проведении ЭГДС необходимо брать биопсии с последующим морфологическим исследованием для исключения диспластических изменений.

Иммунный ответ организма у пациентов ГЭРБ

Одной из задач настоящего исследования было изучение у пациентов с ГЭРБ системного иммунного ответа. Для этого мы определили уровень системных циркулирующих цитокинов: провоспалительных (ИЛ-8, ИФН- γ , ФНО- α), противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) и бивалентных, которые могут проявлять, как противовоспалительную, так и провоспалительную активность в зависимости от условий (ИЛ-2, ИЛ-6). Проведенный анализ показал, что у пациентов с эрозивно-язвенными поражениями пищевода, по сравнению с больными с пищеводом Баррета и НЭРБ преобладает продукция провоспалительных цитокинов (ИЛ-8, ИФН- γ и ФНО- α), что говорит в пользу развития у этих больных Th1-иммунного ответа (Рисунок 3)

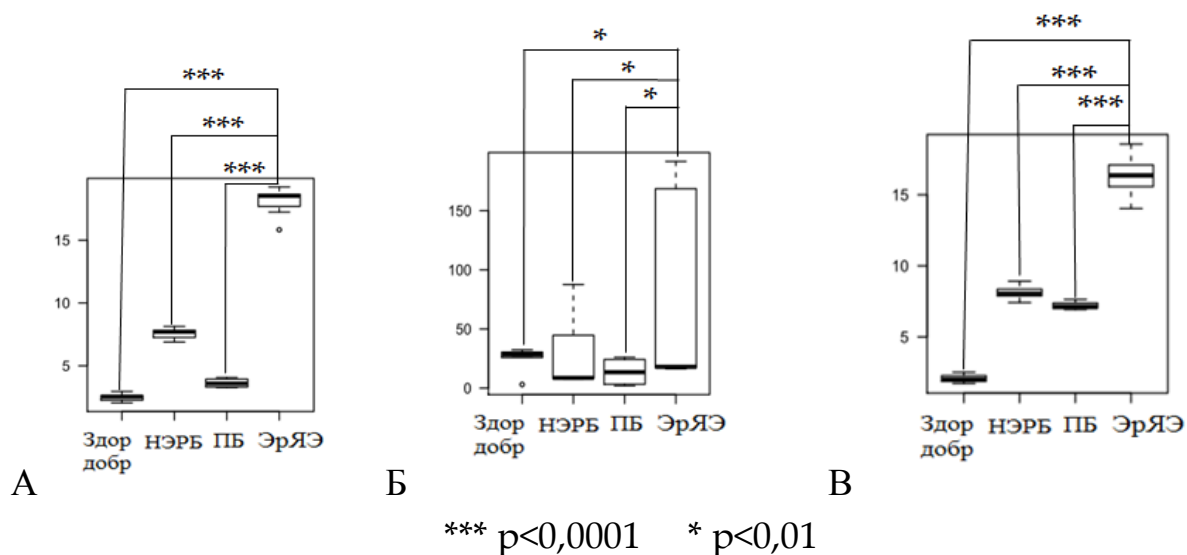


Рисунок 3 - Показатели ИЛ-8 (А), ИФН- γ (Б) и ФНО- α (В) у пациентов с различными формами ГЭРБ

Необходимо отметить, что у пациентов с эрозивно-язвенными поражениями пищевода, по сравнению с больными с НЭРБ и пищеводом Баррета и здоровыми лицами, было значительно выше число кислых рефлюксов ($p < 0,0001$) и повышена экспозиция кислого болюса ($p < 0,0001$). Поэтому мы оценили корреляционные связи между экспрессией провоспалительных цитокинов и импедансометрическими показателями. Анализ выявил сильную корреляцию ($r = 0,76$) между уровнем ИЛ-8 и общим числом кислых рефлюксов и умеренную корреляцию между уровнем ИЛ-8 и экспозицией кислого болюса ($r = 0,42$). Уровень ФНО- α также коррелировал с общим числом кислых рефлюксов ($r = 0,69$) и экспозицией кислого болюса ($r = 0,48$). А, учитывая тот факт, что показатели ФНО- α и ИЛ-8 коррелируют между собой ($r = 0,88$), можно говорить о преобладании провоспалительного системного иммунного ответа у пациентов, имеющих большое количество кислых рефлюксов и повышенную экспозицию кислого болюса.

У пациентов с пищеводом Баррета, по сравнению с пациентами с эрозивно-язвенным эзофагитом, НЭРБ и здоровыми лицами, была достоверно выше продукция обоих противовоспалительных цитокинов (Рисунок 4). Это свидетельствует о преобладании у таких пациентов Th2- иммунного ответа.

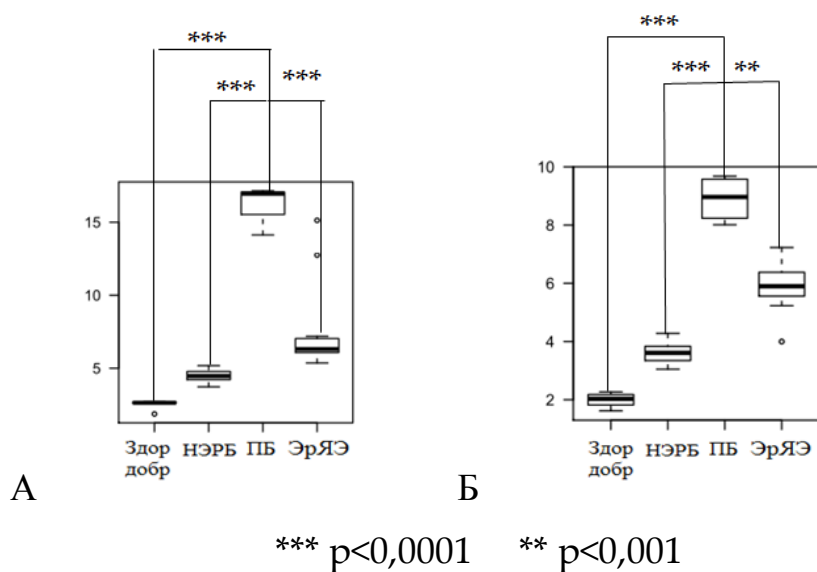


Рисунок 4 - Показатели ИЛ-4 (А) и ИЛ-10 (Б) у пациентов с различными формами ГЭРБ

У больных с пищеводом Баррета, по сравнению с теми, кто имел эрозивно-язвенный эзофагит и НЭРБ, было достоверно выше число СЦР ($p=0,01$), а также повышена экспозиция слабощелочного болюса ($p=0,004$). Мы провели корреляционный анализ между вышеперечисленными импедансометрическими показателями и экспрессией ИЛ-4, ИЛ-10. По его результатам были выявлены положительные корреляции между уровнем ИЛ-4 и общим количеством слабощелочных рефлюксов ($\tau=0,48$) и экспозицией слабощелочного болюса ($\tau=0,50$). В отношении ИЛ-10 были получены сходные результаты – положительные корреляции с общим числом СЦР ($\tau=0,50$) и экспозицией слабощелочного болюса ($\tau=0,51$). Это еще раз подтверждает, как и в случае с ИЛ-4, взаимосвязь между пищеводом Баррета, преобладанием слабощелочных рефлюксов и Th2-иммунным ответом. В пользу такой прямой связи говорит и выявленная сильная положительная корреляция между уровнем двух основных противовоспалительных цитокинов – ИЛ-4 и ИЛ-10 ($\tau=0,85$). При изучении литературных источников, мы не обнаружили работ, которые были посвящены сопоставлению экспрессии цитокинов, показателей 24-часовой рН-импедансометрии пищевода и форм ГЭРБ. Таким образом, нами впервые был проведен корреляционный анализ между этими данными и выявлены вышеописанные корреляции.

Уровень цитокинов был также проанализирован у пациентов, ответивших и не ответивших на терапию ИПП. У больных с рефрактерной формой ГЭРБ была достоверно выше экспрессия провоспалительных цитокинов ИЛ-8, ИФН- γ и ФНО- α ($p<0,0001$ для ИЛ-8 и ФНО- α и $p=0,49$ для ИФН- γ). Такие результаты можно объяснить преобладанием в группе пациентов с рефрактерной ГЭРБ, больных с эрозивно-язвенными поражениями пищевода, у которых, как уже было указано выше, повышена экспрессия провоспалительных цитокинов.

При сопоставлении показателей содержания цитокинов с клинической картиной заболевания, была найдена характерная особенность - достоверная корреляция уровня высокого ИЛ-8 с частотой рецидивирования эрозивного

эзофагита в течение 2 лет, несмотря на проводимую терапию. Анализ показал, что с повышением уровня ИЛ-8 пропорционально возрастает частота рецидивирования эрозивного поражения слизистой пищевода ($p < 0,001$). Так, при концентрации ИЛ-8 от 5 до 10 пг/мл, рецидив наблюдался в 10-40% случаев, тогда как при уровне от 15 до 20 пг/мл частота рецидивирования достигала 80% (Рисунок 5). При изучении данных литературы, была найдена только одна работа, в которой было показано, что у больных с высоким уровнем ИЛ-8, измеренным в слизистой пищевода, в течение трех лет происходило рецидивирование эрозивного эзофагита (Isomoto H., 2007). Таким образом, по результатам настоящего исследования, впервые продемонстрировано, что ИЛ-8, определяемый в системном кровотоке, может быть использован в качестве маркера, предопределяющего течение ГЭРБ.



Рисунок 5 - Частота рецидивирования эрозивного эзофагита в зависимости от уровня ИЛ-8

ВЫВОДЫ

1. У больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ), рефрактерной к терапии ингибиторами протонной помпы (ИПП), по сравнению с пациентами, отвечающими на лечение ИПП (контрольная группа), отмечаются более высокая частота изжоги, возникающей 4-7 раз в неделю (соответственно, 48% и 14%), интенсивной изжоги (62% и 8%), ночной изжоги (54% и 20%), регургитации кислым (94% и 65%), отрыжки горьким (62% и 37%) и горечи во рту (57% и 20%), некоронарогенной боли за грудиной (74% и 37%), кашля (17% и 0%),

осиплости голоса (11% и 0%), а также избыточной массы тела и ожирения (62% и 34%).

2. У больных ГЭРБ, рефрактерной к терапии ИПП, по сравнению с пациентами контрольной группы, обнаруживаются более выраженные изменения рН-импедансометрических показателей: более значительное замедление объемного клиренса в положении лежа (31,03 с и 17,13 с) и химического клиренса в положении стоя (57 с и 28 с) и лежа (112 с и 47 с), большее число кислых и слабокислых рефлюксов, а также «высоких» (проксимальных) рефлюксов, более продолжительная 24-часовая экспозиция кислого и слабокислого болюсов, наличие положительного индекса симптома и положительной ассоциации симптома со слабокислыми рефлюксами.
3. У больных с рефрактерным течением ГЭРБ, по сравнению с пациентами, отвечающими на терапию ИПП, при эндоскопическом и рентгенологическом исследованиях чаще выявляются признаки эрозивно-язвенного эзофагита (соответственно, 54% и 14%), признаки дуоденогастрального рефлюкса (71% и 42%), грыжа пищеводного отверстия диафрагмы (65% и 37%).
4. При гистологическом исследовании биоптатов слизистой оболочки пищевода у больных ГЭРБ, рефрактерной к терапии ИПП, по сравнению с пациентами контрольной группы, чаще определяются высокая активность воспаления (соответственно, 27% и 5%), расширение и полнокровие сосудов сосочков собственной пластинки слизистой оболочки (81% и 50%), дисплазия эпителия (13% и 0%).
5. Выявлена зависимость уровня цитокинов от формы ГЭРБ. У пациентов с эрозивно-язвенным эзофагитом, по сравнению с больными НЭРБ и пищеводом Баррета, преобладает продукция провоспалительных цитокинов ИЛ-8, ИФН- γ и ФНО- α , свидетельствующая о развитии Th1-иммунного ответа. У пациентов с пищеводом Баррета повышена экспрессия противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10,

указывающая на формирование Th2-иммунного ответа организма. Высокий уровень ИЛ-8 ассоциирован с увеличением частоты рецидивирования эрозивного эзофагита в течение 2 лет, несмотря на проводимую терапию.

6. У больных ГЭРБ, рефрактерной к терапии ИПП, по сравнению с пациентами контрольной группы, отмечается достоверно более высокая экспрессия провоспалительных цитокинов ИЛ-8, ИФН- γ и ФНО- α . Уровень ФНО- α и ИЛ-8 коррелирует с общим количеством кислых рефлюксов и экспозицией кислого болюса, а уровень ИЛ-4 и ИЛ-10 – с общим числом слабощелочных рефлюксов и экспозицией слабощелочного болюса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с интенсивной и частой (4-7 раз в неделю) изжогой, изжогой, возникающей в ночное время, болью за грудиной некоронарогенного характера, возникающей 1 раз в неделю и чаще, а также ночью, с жалобами на регургитацию кислым (≥ 2 раз в неделю) можно прогнозировать рефрактерное течение ГЭРБ. Таких больных следует направлять на 24-часовую рН-импедансометрию пищевода для определения характера рефлюктата и назначения соответствующей терапии.
2. При наличии у пациентов наряду с типичными симптомами ГЭРБ (изжога, регургитация кислым) таких диспепсических жалоб, как отрыжка горьким и чувство горечи во рту, можно предположить наличие дуоденогастроэзофагеального рефлюкса (ДГЭР) и назначить совместно с ИПП препараты, уменьшающие ДГЭР.
3. При выявлении по данным суточной рН-импедансометрии пищевода у пациентов с ГЭРБ повышенного числа кислых и слабокислых рефлюксов, увеличения экспозиции кислого и слабокислого болюсов, замедления химического и объемного клиренса, следует предположить рефрактерное

течение ГЭРБ и назначить терапию, направленную на нормализацию этих показателей.

4. У пациентов, имеющих помимо типичных симптомов ГЭРБ внепищеводные симптомы, необходимо проведение 24-часовой рН-импедансометрии пищевода для исключения «высоких» патологических рефлюксов.
5. Высокий уровень ИЛ-8 можно использовать в качестве прогностического маркера рецидивирующего течения ГЭРБ.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Евсютина Ю.В., Трухманов А.С.** Новый взгляд на проблему гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, рефрактерной к лечению ингибиторами протонной помпы // **Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.** 2014. - №5. – С. 4-10.
2. **Evsyutina Y., Trukhmanov A., Lyamina S., Malyshev I., Ivashkin V.** The circulating level of cytokines in patients with different forms of gastroesophageal reflux disease: non-erosive reflux disease, erosive esophagitis and Barrett's esophagus // *United European Gastroenterology Journal.* - October 2014.- Volume 2: Supplement 1. - A263-A264.
3. **Evsyutina Y., Trukhmanov A., Lyamina S., Malyshev I., Ivashkin V.** The circulating level of cytokines in patients with refractory to proton pump inhibitors gastroesophageal reflux disease // *United European Gastroenterology Journal.* - October 2014. Volume 2: Supplement 1. - A264.
4. **Евсютина Ю.В., Трухманов А.С., Лямина С.В., Малышев И.Ю., Ивашкин В.Т.** Уровень циркулирующих цитокинов у пациентов с рефрактерной к лечению ингибиторами протонной помпы гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью. Материалы XX Российской гастроэнтерологической недели // **Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.** - 2014. - №5. Приложение №44. - С. 6.
5. **Евсютина Ю.В., Трухманов А.С.** Недостаточный ответ на терапию ингибиторами протонного насоса: причины и тактика ведения пациентов // **Терапевтический архив.**- 2015. - №2. – С. 85-89.
6. **Евсютина Ю.В., Трухманов А.С., Ивашкин В.Т.** Причины развития гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, рефрактерной к лечению ингибиторами протонной помпы// **Российские Медицинские Вести.**- 2015. - №1. – С. 14-19.
7. **Евсютина Ю.В., Трухманов А.С.** Новые возможности терапии гастроэзофагеальной рефлюксной болезни путем повышения приверженности пациентов к лечению // **Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.** 2015. - №2. – С. 4-9.
8. **Evsyutina Y., Trukhmanov A., Storonova O., Ivashkin V., Lyamina S., Malyshev I.** Correlations between the form of gastroesophageal reflux disease, parameters on esophageal pH-impedance monitoring and cytokines expression // *Neurogastroenterology & Motility.* – June 2015. Volume 27: Supplement S2. – P58.
9. **Evsyutina Y., Trukhmanov A., Storonova O., Ivashkin V.** The parameters on esophageal pH-impedance testing in patients with gastroesophageal reflux disease refractory to proton pump inhibitors // *Neurogastroenterology & Motility.* – June 2015. Volume 27: Supplement S2. – P58.