

УДК 616.329-076

**К ВОПРОСУ О ЖЕЛУДОЧНОЙ
МЕТАПЛАЗИИ И ДИСПЛАЗИИ ПИЩЕВОДА
БАРРЕТТА**

Могильная Галина Михайловна – д.м.н., профессор
*Кубанский государственный медицинский
университет, Краснодар, Россия*

Дурлештер Владимир Моисеевич – д.м.н.,
профессор
*МБУЗ ГБ № 2 «КМЛДО»,
Кубанский государственный медицинский
университет, Краснодар, Россия*

Могильная Вера Леонидовна – д.м.н., профессор
*Кубанский государственный медицинский
университет, Краснодар, Россия*

Дряева Людмила Геннадьевна
МБУЗ ГБ № 2 «КМЛДО», Краснодар, Россия

В статье представлены результаты
морфологических, гистохимических,
иммуногистохимических исследований слизистой
оболочки пищевода Барретта, позволяющие
считать желудочную метаплазию дефиницией
пищевода Барретта.

Ключевые слова: ПИЩЕВОД БАРРЕТТА,
ЖЕЛУДОЧНАЯ МЕТАПЛАЗИЯ, MUC5AC,
МУЦИН 2.

UDC 616.329-076

**ON THE ISSUE OF GASTRIC METAPLASIA
AND DYSPLASIA OF BARRETT ESOPHAGUS**

Mogilnaya Galina Mikhailovna – MD, prof.
Kuban state medical university, Krasnodar, Russia

Durleshter Vladimir Moiseevich – MD, prof.
*City Hospital Nr 2 «KMLDO»
Kuban state medical university, Krasnodar, Russia*

Mogilnaya Vera Leonidovna – MD, prof.
Kuban state medical university, Krasnodar, Russia

Dryaeva Ludmila Gennadievna
City Hospital Nr 2 «KMLDO», Krasnodar, Russia

The article presented results of morphological,
hystochemical, immune hystochemical investigations
of Barrett esophagus mucosa. The data obtained
revealed that gastric metaplasia is the definition of
Barrett esophagus.

Key words: BARRETT ESOPHAGUS, GASTRIC
METAPLASIA, MUC5AC, MUC 2.

Одной из проблем в диагностике пищевода Барретта является дискуссия относительно наличия в зоне метаплазии эпителия желудочного типа, которая по современным представлениям заметно отличается от кишечного варианта метаплазии [8, 10, 15]. Прежде всего, морфологи не решили вопрос о том, можно ли желудочную метаплазию считать ПБ или только кишечную. В результате продолжающейся дискуссии сформировались две точки зрения. Так, Американская коллегия гастроэнтерологов дефиницией ПБ считает наличие в биоптатах метапластических зон не только цилиндрических, но и бокаловидных клеток желудочного типа [14, 15]. Playford [13] в обосновании точки зрения Британского общества гастроэнтерологов, а также гастроэнтерологи Японии [16] отмечают, что наличие бокаловидных клеток в участках метапластических зон ПБ не обязательно.

Решение этой проблемы представляется принципиальным, поскольку, по данным Odze [10, 11], число бокаловидных клеток и плотность их расположения положены в основу оценки риска злокачественности пищевода Барретта.

Настоящее исследование посвящено характеристике метапластических зон пищевода Барретта, дифференцирующихся по типу желудочной метаплазии.

Материал и методы. Материал получен при скрининговой диагностике 110 пациентов с клиникой ГЭРБ. Эндоскопически, а затем и морфологически выделена группа, состоящая из 26 пациентов, в зоне метаплазии слизистой оболочки пищевода которых был обнаружен один тип метаплазированного эпителия, типированный как желудочный. У 28 пациентов имела место комбинация эпителия желудочного типа с интестинальной метаплазией, у 5 больных наблюдался только интестинальный тип эпителия. У других пациентов ПБ диагностирован не был.

Для избирательного выявления нейтральных и кислых муцинов использован комплекс гистохимических методов, описанный М.Г. Шубич, Г.М. Могильной [1, 2], а также ряд аналитических и ферментативных обработок [12]. Иммуногистохимическое изучение муцинов проводили с моноклональными антителами к MUC5AC («Vector», клон CLH, 1:75) и MUC2 («Vector», клон Сер. 58). Для оценки уровня экспрессии желудочного (MUC5AC) и кишечного (MUC2) муцинов применялась полуколичественная шкала оценки интенсивности («-» – отсутствие, «+» – слабая, «++» – умеренная, «+++» – выраженная). При этом поле зрения считалось пригодным для данной оценки признака при наличии в нем не менее 60 % позитивно окрашенных клеток. При 400-кратном увеличении микроскопа определяли индекс пролиферации (ядерная метка Ki67) как долю (в %) положительно окрашенных ядер эпителиоцитов слизистой оболочки в 10-ти случайно выбранных полях зрения (≥ 1000 клеток). Иммуногистохимический тест на CK7 и CK20 оценивался как положительный при наличии в одном поле зрения не менее 60 % позитивно окрашенных клеток.

Результаты. На основе морфологического изучения биоптатов были выделены больные (26) только с желудочной метаплазией в зоне ПБ. Для морфологической оценки этих участков мы использовали ряд критериев, приведенных в таблице 1, при этом морфологические параметры слизистой ПБ с желудочной метаплазией были сопоставлены с длиной сегмента ПБ.

Так, у пациентов с коротким и длинным сегментами ПБ выявлена атрофия слизистой, которая сочеталась с эффектом склерозирования.

Таблица 1 – Длина сегмента и морфологические параметры слизистой пищевода Барретта с желудочной метаплазией

Морфологические признаки	Ультракороткий <i>n</i> = 15 абс. (%)	Короткий <i>n</i> = 9 абс. (%)	Длинный <i>n</i> = 2 абс. (%)
Очаги МПЭ	0 (0 %)	3 (33,3 %)	0 (0 %)
Железы кардиального типа	15 (100 %)	9 (100 %)	2 (100 %)
Псевдобокаловидные клетки	5 (33,3 %)	8 (88,9 %)*	2 (100 %)*
Дисплазия:			
низкая	0 (0 %)	5 (55,5 %)	1 (50 %)
высокая	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Нейтрофильная инфильтрация	0 (0 %)	5 (55,5 %)	0 (0 %)
Лимфоплазмочитарная инфильтрация	4 (26,7 %)	9 (100 %)*	2 (100 %)*
Склероз слизистой:			
отсутствует	11 (73,3 %)	1 (11,1 %)*	0 (0 %)
слабый	3 (20 %)	3 (33,3 %)	0 (0 %)
умеренный	1 (6,7 %)	4 (44,4 %)*	1 (50 %)
выраженный	0 (0 %)	1 (11,1 %)	1 (50 %)
атрофия слизистой	3 (20 %)	8 (88,9 %)*	2 (100 %)*

Примечание: * – представлены достоверные отличия ($p < 0,05$) от группы больных с ультракоротким сегментом ПБ; МПЭ – многослойный плоский эпителий.

Дисплазия низкой степени обнаружена у 5 пациентов с коротким и у одного пациента с длинным сегментом ПБ, что составило 23,1 % от общего числа пациентов обследованной группы (рис. 1).

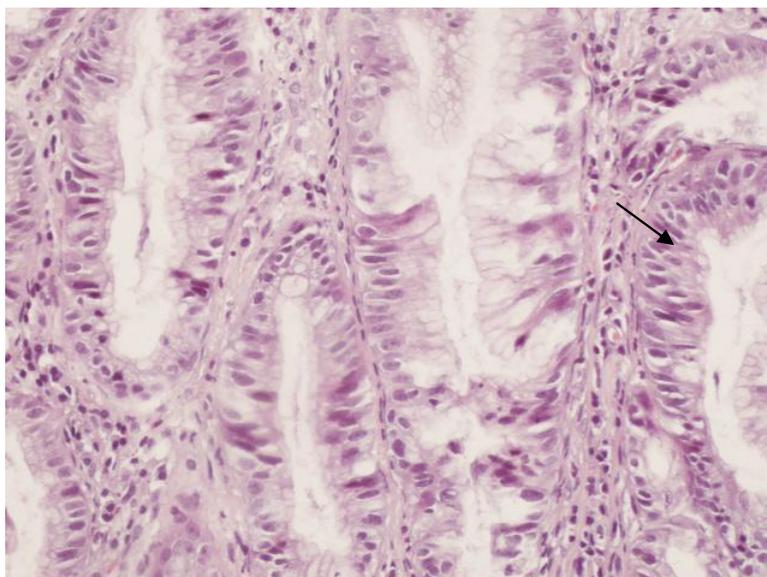


Рисунок 1. Пищевод Барретта с желудочной метаплазией и распространенной низкой дисплазией (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$

Морфологически данные биоптаты характеризовались гиперхромностью и умеренной псевдостратификацией ядер, плотным расположением желез, а также нейтрофильной инфильтрацией собственной пластинки слизистой.

У пациентов в 5 случаях (33,3 %) при ультракоротком, в 8 случаях (88,9 %) – при коротком сегментах ПБ и у больных с длинным сегментом ПБ среди клеток желудочного типа можно было выявить клетки, напоминающие бокаловидные. По мнению D. Odze [10, 11], такие клетки могут быть источником ошибок в интерпретации типа метаплазии. Для дифференцировки этих клеток предлагают использовать характер их расположения. Так, клетки, расположенные в виде цепочки в поверхностном эпителии, интерпретируются как «псевдобокаловидные», поскольку истинные бокаловидные клетки лежат поодиночке и в глубоких отделах крипт (рис. 2).

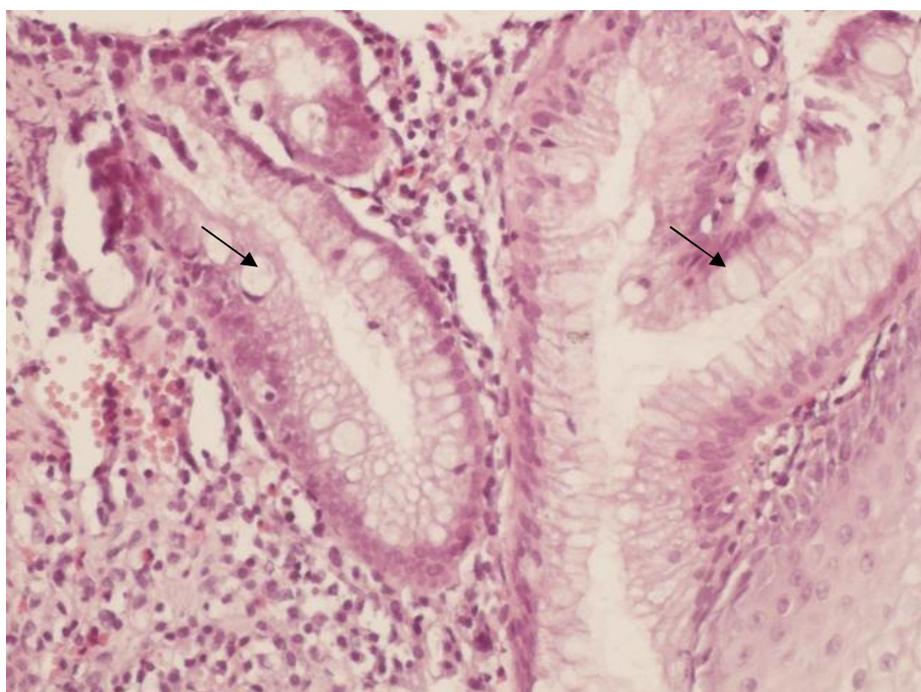


Рисунок 2. Пищевод Барретта с желудочной метаплазией. Псевдобокаловидные клетки (стрелка). Окраска гематоксилином эозином, увеличение $\times 100$

При проведении комплекса гистохимических реакций оказалось, что

при реакции по методу ШИК на фоне участков, покрытых многослойным эпителием, заметны интенсивно окрашенные клетки цилиндрической формы, заполненные секретом. Распределение продукта реакции диффузное, местами вакуолярное. Интенсивно окрашиваются также и эпителиоциты желез. Отношение ШИК-реакции к контрольным и ферментативным обработкам позволило констатировать наличие в этих метаплазированных зонах нейтральных муцинов. В условиях сочетания реакции альцианового синего при pH 2,5 и ШИК-реакции выявлена часть клеток среди покровных и железистых эпителиоцитов, сочетающих в составе секрета нейтральные муцины и сиаломуцины. Факт наличия эпителиоцитов такого типа интересен, поскольку эпителиоциты желудка в норме не содержат сиаломуцинов. Сульфомуцины в составе секрета обнаружены не были.

При суммарном выявлении трефоиловых пептидов оказалось, что апикальные части клеток участков желудочной метаплазии окрашиваются интенсивно, секрет имеет вид пенистой массы. Базальная часть эпителиоцитов остается не окрашенной. Иммуногистохимический профиль желудочной метаплазии изучен с использованием тестов для избирательного выявления MUC5AC, MUC2, цитокератинов CK7 и CK20, а также ядерного маркера пролиферации Ki67. Полученные результаты сведены в таблицу 2.

Таблица 2 – Иммуногистохимическая характеристика желудочной метаплазии пищевода Барретта

Морфологические признаки СО ПБ	MUC2	MUC5AC	CK7	CK20	Ki67
Ультракороткий сегмент (n=15)					
Поверхностные эпителиоциты	–	n = 15 (+++)	n = 15 (+++)	n = 15 (+++)	–
Железы кардиального типа	–	n = 11 (+++) n = 4 (++)	n = 15 (+++)	n = 15 (+++)	–
Псевдобокаловидные клетки	–	n = 15 (+++)	n = 15 (+++)	n = 15 (+++)	–
Короткий сегмент (n=9)					
Поверхностные эпителиоциты	n = 3 (+) n=6 (-)	n = 9 (+++)	n = 9 (+++)	n = 9 (+++)	–
Железы кардиального типа	–	n = 9 (++)	n = 9 (+++)	n = 9 (+++)	–
Псевдобокаловидные клетки	–	n = 9 (+++)	–	n = 9 (+++)	–
Низкая дисплазия (кардиальные железы)	–	–	–	–	n = 1 (20–25 %)
Длинный сегмент (n=2)					
Поверхностные эпителиоциты	n = 1(+) n=1 (-)	n = 2 (+++)	n = 2 (+++)	n = 2 (+++)	–
Железы кардиального типа	–	n = 2 (++)	n = 2 (+++)	n = 2 (+++)	–
Псевдобокаловидные клетки	–	n = 2 (+++)	–	n = 2 (+++)	–
Низкая дисплазия (кардиальные железы)	–	–	–	–	n = 1 (20–25 %)

Оказалось, что при избирательном выявлении MUC5AC у 4-х пациентов с ультракоротким, у 9 пациентов с коротким и у 2-х больных с длинным сегментом ПБ интенсивную реакцию обнаруживают поверхностные эпителиоциты и клетки желез кардиального типа (рис. 3).

Продукт реакции распределен, как правило, диффузно, лишь местами видны мелкие гранулы с преимущественной локализацией в перенуклеарной зоне. Поверхностные эпителиоциты и псевдобокаловидные клетки содержат MUC5AC в апикальной части клеток.

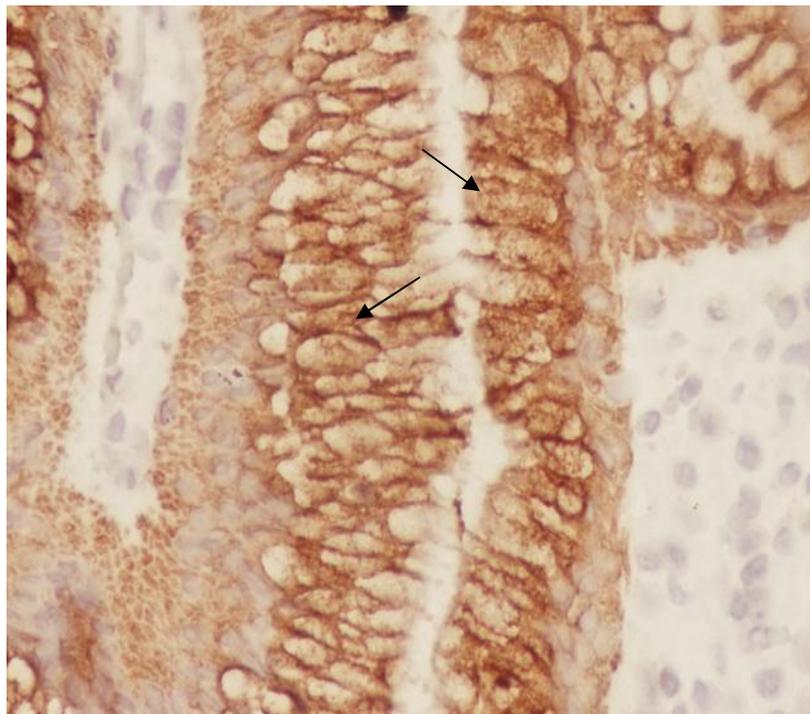


Рисунок 3. Пищевод Барретта с желудочной метаплазией. Интенсивная реакция MUC5AC (стрелка). Увеличение $\times 400$

MUC2 в низких концентрациях обнаружен в отдельных покровных эпителиоцитах пациентов с коротким сегментом (3 человека) и у одного больного с длинным сегментом.

У всех пациентов (26 человек) с желудочной метаплазией независимо от длины сегмента ПБ при выявлении цитокератинов положительную реакцию на СК7 обнаруживают только поверхностные эпителиоциты; СК20 выявлен как в поверхностных клетках, так и в железистых эпителиоцитах кардиальных желез. Ядерный антиген пролиферативной активности Ki67 был обнаружен у 2-х пациентов с морфологическими признаками дисплазии и только в 20–25 % ядер железистых эпителиоцитов.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что для пациентов, имеющих желудочный тип метаплазии, характерно: преобладание ультракороткого сегмента ПБ (57,7 %), присутствие желез кардиального типа (100 %) и псевдобокаловидных клеток (57,7 %).

Эпителиоциты метаплазированных зон продуцируют, преимущественно, нейтральные муцины, что соответствует покровным эпителиоцитам желудка здорового человека. При иммуногистохимическом исследовании установлено, что MUC5AC экспрессируется как поверхностными эпителиоцитами, так и псевдобокаловидными клетками. С увеличением длины сегмента экспрессия MUC5AC эпителиоцитами метапластических зон снижается, нарастает эффект склерозирования стромы слизистой, появляются диспластические изменения.

При избирательном выявлении MUC2 эпителиоциты зоны желудочной метаплазии обычно не дают реакции. Однако у 4-х пациентов были обнаружены единичные эпителиоциты с положительно окрашенными гранулами на MUC2.

Обсуждение. Таким образом, желудочная метаплазия может рассматриваться как начальная форма развития ПБ, поскольку стволовая клетка многослойного плоского эпителия пищевода уже вступила на путь развития по новому фенотипическому типу. Неопластический потенциал этой метапластической зоны, прежде всего, связывают с трансформацией ее в метаплазию кишечного типа. Повышенный интерес к участкам интестинальной метаплазии в ПБ обусловлен тем, что появляющиеся бокаловидные клетки являются предвестником трансформации ПБ в аденокарциному [15]. Однако появились работы, согласно которым цилиндрический эпителий без бокаловидных клеток также подвергается фенотипической интестинализации, на что указывает аномальный тип их хромосом [4, 7]. Так, было показано, что у некоторых пациентов участки цилиндроклеточной линии ПБ без бокаловидных клеток обладают аналогичным риском неопластического прогресса, как и у пациентов с бокаловидными клетками [5]. Результаты наших исследований также показали, что в рамках желудочной метаплазии в 23,1 % случаев имел место эффект дисплазии. Эти данные представляются значимыми,

поскольку генетическая и хромосомальная нестабильность – это главные факторы в патогенезе аденокарциномы. На основе детекции ДНК в ядрах цилиндроклеточной линии ПБ Liu et al. [8] приходят к заключению, что у пациентов с коротким (и ультракоротким) сегментом цилиндрический эпителий метапластических зон характеризуется абнормальным содержанием ДНК. Эти данные позволили авторам заключить, что уровень содержания ДНК в ядрах цилиндроклеточной линии метаплазии является ранним признаком неопластической прогрессии ПБ.

По данным Nejin и соавторов [6], у пациентов с метапластическим эпителием без бокаловидных клеток выявляется положительная реакция на MUC5AC, виллин и CDX2. Это позволило высказать им предположение о том, что эти участки содержат эпителиоциты интестинального типа, но без бокаловидных клеток. Такой тип дифференцировки эпителиоцитов метапластической зоны оценивается как факт конвертации плоского эпителия пищевода в цилиндрический интестинальный, но без бокаловидных клеток.

Однако Brown et al. [3] считают, что желудочная метаплазия сама может переходить в фовеолярную дисплазию, отличающуюся высоким неопластическим потенциалом. При этом схема трансформации ПБ происходит следующим образом: желудочная метаплазия – фовеолярная дисплазия – аденокарцинома. С этой точкой зрения перекликается и работа Mahajan et al. [9].

Полученные нами данные и результаты исследований, приведенные в литературе, свидетельствуют о том, что появление в пищеводе метапластических зон с эпителием желудочного типа следует считать дефиницией пищевода Барретта, а развивающийся в зоне ПБ желудочно-фовеолярный тип дисплазии следует выделить в отдельную форму и разработать для нее отличительный критерий диагностики.

Список литературы

1. Шубич М.Г., Могильная Г.М. Гликопротеины и протеогликаны. Методы их гистохимического анализа // Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. – 1979 – № 8. С. 65–71.
2. Шубич М.Г., Могильная Г.М. Значение ШИК-метода в гистохимическом анализе углеводных и углеводородсодержащих биополимеров // Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. – 1982. – № 5. С. 90–93.
3. Brown J., Whiteman D., Jauwers G. Foveolar type dysplasia in Barrett's esophagus // Modern Pathology. – 2010. – № 23. P. 834–843.
4. Chaves P. et al. Chromosomal analysis of Barrett's cells: demonstration of instability and detection of the metaplastic lineage involved // Mod. Pathol. – 2007 – № 20 – P. 788–796.
5. Gatenby P., Ramus J. & Caygill C. Relevance of the detection of intestinal metaplasia in non-dysplastic columnar-line esophagus // Scand. J. Gastroenterol. – 2008 – № 43. – P. 524–530.
6. Hejin P. et al. Intestinal differentiation in metaplastic, non-goblet columnar epithelium in the esophagus // Amer. J Surg. Pathol. – 2009 – Vol. 33. – P. 1006–1015.
7. Kerkoff M., Bax D., Moons L. et al. For the cybar Study group. Does CDX2 expression predict Barrett's metaplasia in esophageal columnar epithelium without goblet cells? // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2006 – № 24. P. 1611–1621.
8. Liu W. et al. Metaplastic esophageal columnar epithelium without goblet cells shows DNA content abnormalities similar to goblet cell containing epithelium // Am J. Gastroenterol. – 2009. – № 104. – P. 816–824.
9. Mahajan D., Bennetta A., Liu X., Bena J., Bronner P. Grading of gastric foveolar – type dysplasia in Barrett's esophagus. // Modern Pathology. – 2010 – № 23. – P. 1–11.
10. Odze R.D. Diagnosis and grading of dysplasia in Barrett's oesophagus // J Clin. Pathol. – 2006. – № 59. – P. 1029–1038.
11. Odze R.D. Update on the diagnosis and treatment of Barrett's esophagus and related neoplastic precursor lesions // Arch. Pathol. Lab. Med. – 2008. – № 132. – P. 1577–1585.
12. Pearse A. Histochemistry. Teoretical and applied. London, 1968. – P. 561
13. Playford R.J. New British Society of gastroenterology (BSG) guidelines for the diagnosis and managment of Barrett's esophagus // Gut. – 2006. – № 55. – P. 442.
14. Sharma P., Mc Quaid K., Dent J. et al. A critical reviw of the diagnosis and managment of Barrett's esophagus: the Aga Chicago workshop // Gastroenterology – 2004. – № 27 – P. 310–330.
15. Wang K.K. & Sampliner R.E. Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus // Am J Gastroenterol. – 2008 – № 103. – P. 788–797.
16. Yamamoto S., Kijiman H., Hara T., Chino O., Shimada H., Tanaka M., Inokuchi S., Makuuchi H. Mucin expression and proliferating cell index of esophageal Barrett's adenocarcinoma // J Mol. Med. – 2005 – Vol. 16 (3) – P. 375–80.