

Осминин Сергей Викторович

Хирургическое лечение пищевода Барретта с учетом молекулярно-генетических изменений слизистой пищевода

14.01.17 – ХИРУРГИЯ
03.02.07 – ГЕНЕТИКА

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор биологических наук, профессор

Хоробрых Татьяна Витальевна
Немцова Марина Вячеславовна

Официальные оппоненты:

Дурлештер Владимир Моисеевич - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра хирургии №3 ФПК и ППС, заведующий кафедрой

Цуканов Алексей Сергеевич - кандидат медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кабинетом лабораторной генетики

Ведущее учреждение:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России) г. Москва

Защита диссертации состоится «__» _____ 2017 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 208.040.03 при ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России по адресу (119991, г. Москва, ул. Трубецкая дом 8, стр. 2).

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1 и на сайте организации www.mma.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Шулутко Александр Михайлович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В течение последних трех десятилетий существенно изменялся «гистологический портрет» рака пищевода, в 6 раз возросла частота аденокарциномы пищевода, на фоне снижения заболеваемости плоскоклеточным раком [Anaparthu R., 2013; Jemal A., 2009].

Общепринято, что пищевод Барретта является предшественником аденокарциномы пищевода, увеличивая риск ее развития в 30-125 раз [Desai T., 2012; Wang K.K., 2008]. В основе развития ПБ лежат процессы метаплазии эпителия пищевода, при которых под действием различных факторов, нормальный плоскоклеточный эпителий замещается цилиндрическим кишечного типа, затем пищевод Барретта прогрессирует в стадию дисплазии и до аденокарциномы пищевода [Wang D.H., 2011].

Диагноз пищевода Барретта устанавливают в случае обнаружения видимых при эндоскопическом исследовании сегментов кишечной метаплазии в пищеводе и обнаружении бокаловидных клеток при гистологическом исследовании биопсийного материала [Milind R., 2012].

Метаплазия является защитной реакцией эпителия при хроническом воспалении, возникающем вследствие рефлюкс-эзофагита, которым страдает до 62% населения развитых стран [Tosh D., 2002]. Основной причиной рефлюкс-эзофагита является патологический заброс кислот желудочного сока и желчи в пищевод, в результате нарушения клапанного механизма кардиального отдела желудка [Черноусов А.Ф., 2011].

Частота выявления ПБ выше Z-линии, при эндоскопическом исследовании может достигать 32%, а при аутопсии, составляет 376 человек на 100 000 населения [Sikkema M., 2010; Chandrasoma P.T., 2003]. Выявление дисплазии высокой степени является показанием к экстирпации пищевода, и в 30% наблюдений экстирпацию пищевода выполняют больным по поводу предракового состояния, возможно не прошедших точку невозврата на пути к

аденокарциноме пищевода [Spechler S.J., 2011]. Экстирпация пищевода является технически сложной и травматичной операцией, при которой, по данным литературы, послеоперационная летальность достигает от 7,5 до 14,5% [Briel J.W., 2004; Черноусов А.Ф., 2001].

Несмотря на широкое внедрение малоинвазивных эндоскопических методик резекции и абляции очагов пищевода Барретта, при их использовании нередко наблюдают рецидив заболевания [Spechler S.J., 2011; Coupland V.H., 2012].

В свете недостаточной эффективности эндоскопических методов лечения пищевода Барретта и большим, зачастую инвалидизирующим, объемом вмешательства при экстирпации пищевода, в настоящее время остро обсуждается проблема правомочности выполнения органосохраняющих антирефлюксных операций для предотвращения малигнизации эпителия пищевода у данной категории больных [DeMeester S.R., 2015].

В настоящее время исследователи обсуждают важность молекулярно-генетических маркеров для оценки риска онкологической прогрессии при пищеводе Барретта, обозначив их изучение в качестве приоритетного направления молекулярной и клинической онкологии [Fang D., 2011].

Доказано, что антирефлюксная операция, с созданием адекватно функционирующей манжеты, приводит к регрессии метаплазии и дисплазии низкой степени [Chang E.Y., 2007; Martinez de Haro L.F., 2007; O'Riordan J.M., 2004].

Несмотря на многолетние исследования и множество предложенных способов антирефлюксных вмешательств, они далеко не всегда оказываются эффективными. До 30% больных после хирургического лечения отмечают рецидив клинических проявлений рефлюкс-эзофагита [Shebrain S., 2009]. К сожалению, вследствие технических особенностей предлагаемых авторами вариантов фундопликации (отсутствие дополнительных швов фиксации к пищеводу или неполное и несимметричное оборачивание манжеты вокруг пищевода), зачастую в послеоперационном периоде развиваются такие осложнения как гиперфункция манжеты, полное или частичное ее разрушение,

миграция в грудную полость или соскальзывание с развитием "телескопического" эффекта. Так у 30-66% больных после хирургического вмешательства вновь возникают симптомы рефлюкс-эзофагита или дисфагия, а порядка 10-20% больных подвергаются повторным антирефлюксным операциям [Becher A., 2008]. Поэтому формирование эффективной, адекватно функционирующей как в брюшной, так и в грудной полости антирефлюксной манжеты является главной задачей хирургического лечения.

Важность возможности расчёта риска онкологической прогрессии на дооперационном этапе и выбора наиболее адекватного, с учетом возможности дальнейшего развития заболевания, и эффективного для конкретного больного, с точки зрения функциональных результатов, объема хирургического вмешательства, а так же прогресс современных генетических технологий в исследованиях специфической экспрессии генов при АК пищевода и ПБ, позволяющих выявить специфичные наборы молекулярных маркеров - послужили основанием для проведения настоящей работы.

Степень разработанности темы исследования

В ходе анализа данных отечественных и зарубежных литературных источников выяснилось, что на сегодняшний день не была предложена панель молекулярно генетических маркеров прогрессии пищевода Барретта в аденокарциному пищевода. Авторы предлагали использовать для оценки риска малигнизации эпителия пищевода, отдельно взятые гены-маркеры, а число пациентов включенных в исследования, не позволяло статистически достоверно оценить значимость предложенных методов. Так же, ни в одном исследовании не проводили оценку корреляции качества жизни пациентов с морфологическими и молекулярно-генетическими изменениями до и после хирургического лечения. Таким образом, возможность формирования панели молекулярно-генетических маркеров оценки риска онкологической прогрессии при пищеводе Барретта, и выполнения органосохраняющих хирургических вмешательств у данной категории больных является актуальной проблемой.

Цель исследования

Улучшить результаты хирургического лечения пациентов с пищеводом Барретта за счет органосохраняющих операций, используя для оценки динамики изменений слизистой оболочки пищевода молекулярно-генетические исследования.

Задачи исследования

1. Оценить результаты антирефлюксных операций в раннем и отдаленном послеоперационных периодах.
2. Изучить динамику генетических изменений в слизистой оболочке пищевода до и после антирефлюксной операции, в сравнении с изменениями слизистой при аденокарциноме пищевода.
3. Разработать молекулярно-генетическую панель маркеров, исследуемых в слизистой пищевода, для оценки результатов хирургического лечения пациентов с пищеводом Барретта, исходя из молекулярно-генетических изменений при аденокарциноме пищевода.
4. Уточнить показания к выполнению органосохраняющих операций у пациентов с пищеводом Барретта с учетом динамики молекулярно-генетических изменений в слизистой оболочке пищевода.
5. Оценить прогностическую ценность панели молекулярно-генетических маркеров.

Научная новизна результатов работы

Изучена эффективность антирефлюксных операций у пациентов с пищеводом Барретта в зависимости от вида хирургического доступа, грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, степени укорочения пищевода и тяжести рефлюкс-эзофагита в ближайшем и отдаленном послеоперационном периодах.

Подтверждена эффективность органосохраняющих операций у больных пищеводом Барретта с учетом данных результатов клинических, морфологических и молекулярно-генетических исследований.

Обоснована правомочность и определены показания к выполнению органосохраняющих операций у больных с пищеводом Барретта, вне зависимости от вида хирургического доступа.

Впервые проведено сравнение динамики изменений, как молекулярно-генетических (аномального метилирования генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3*), так и визуализированных при эндоскопическом исследовании слизистой пищевода у больных пищеводом Барретта до и после оперативного лечения и пациентов с аденокарциномой пищевода.

Разработана и апробирована в клинической практике панель молекулярно-генетических маркеров для оценки риска онкологической прогрессии у пациентов с ПБ, которая включает исследование аномального метилирования генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3*. Специфичность предложенной панели маркеров составила 60%, а чувствительность 86%, вероятность прогрессии пищевода Барретта у пациентов с аномальным метилированием почти в 10 раз выше (OR=9,559) по сравнению с больными без аномального метилирования, что доказывает ее прогностическую ценность.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выработанная тактика органосохраняющего оперативного лечения больных пищеводом Барретта в зависимости от степени укорочения пищевода, вида грыжи пищеводного отверстия диафрагмы и тяжести рефлюкс-эзофагита, с учетом молекулярно-генетических маркеров позволила улучшить непосредственные и отдаленные результаты лечения, а так же качество жизни больных.

Разработанная панель молекулярно-генетических маркеров позволяет уточнить показания к органосохраняющим операциям у больных пищеводом Барретта и проводить динамический контроль после их выполнения.

Практическое использование разработанной лечебной тактики позволило уменьшить число осложнений и улучшить результаты лечения данной категории больных.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Выполнение антирефлюксных операций в объеме гастропластики и фундопластики больным пищеводом Барретта правомочно вне зависимости от вида грыжи пищеводного отверстия диафрагмы и тяжести рефлюкс-эзофагита.

- При наличии у пациентов с пищеводом Барретта грыжи пищеводного отверстия диафрагмы с укорочением пищевода I степени целесообразно выполнять полную симметричную фундопликацию в модификации А.Ф. Черноусова, а с укорочением пищевода II степени - клапанную гастропликацию.
- Выполнение органосохраняющих антирефлюксных операций у пациентов с пищеводом Барретта из лапароскопического доступа предпочтительнее, так как обеспечивает снижение количества послеоперационных осложнений, а так же ускоряет и облегчает восстановление больных после операции.
- Органосохраняющие антирефлюксные операции достоверно приводят к регрессии воспалительных изменений в пищеводе, снижают риск онкологической прогрессии среди больных пищеводом Барретта.
- Проведение молекулярно-генетического исследования аномального метилирования генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3* пациентам с пищеводом Барретта до и после операции достоверно позволяет прогнозировать течение заболевания.

Методология и методы исследования

Научное исследование выполнено на высоком научно-методическом уровне с использованием современного сертифицированного оборудования и высокотехнологических методов обследования, основано на большом клиническом опыте и значительном числе пациентов. Сбор, обработка, анализ исходных данных проведен с использованием адекватных современных статистических методов и компьютерных программ.

Степень достоверности результатов

Достоверность полученных результатов обусловлена достаточным количеством пациентов включенных в исследование, использованием современных методов статистического анализа и обработки результатов. В работе использован достаточный объем литературных источников отечественных и иностранных данных.

Апробация работы

Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на клинической конференции Кафедры факультетской хирургии №1 лечебного факультета ПМГМУ имени И.М. Сеченова и УКБ №1 ПМГМУ имени И.М. Сеченова. Основные положения работы были представлены и обсуждены: на XVIII съезде Российского общества эндоскопических хирургов (Москва, 17-19 февраля 2015 г.); научно-практической конференции Успенские чтения (Тверь, 24-25 сентября 2015); на XIX Российском онкологическом конгрессе (Москва, 17-19 ноября 2015); на XXIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 11-14 апреля 2016).

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в практике хирургических отделений Клиники факультетской хирургии им. Н.Н. Бурденко Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, а также в учебном процессе на кафедре факультетской хирургии №1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, анализе и обобщении полученных результатов. В работах, выполненных в соавторстве, автором лично проведено моделирование процессов, мониторинг основных параметров, аналитическая обработка, научное обоснование и обобщение полученных результатов. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от постановки задач, их экспериментально-теоритической и клинико-хирургической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах и их внедрении в практику.

Связь задач исследования с проблемным планом медицинской науки

Диссертационная работа выполнена в соответствии со «Стратегией развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года», в частности с научной платформой «Инвазивная медицина» (Приложение № 13 к приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 30 апреля 2013 г. № 281 (в редакции приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации от «23» сентября 2015 г. № 9), участником которой является ФГБОУ ВО Первый

Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Соответствие диссертации паспорту научных специальностей

В соответствии с формулой специальности хирургия (14.01.17) - создание новой хирургической техники, разработка новых оперативных вмешательств и новых хирургических технологий, а также совершенствование методов профилактики, ранней диагностики и лечения хирургических болезней будут способствовать сохранению здоровья населения, и областью исследований пп. 2, 4 в диссертационном исследовании разработан способ ранней диагностики и выполнения органосохраняющих операций при облигатном предраковом заболевании – пищеводе Барретта.

В соответствии с областью исследований пп. 7, 17 по специальности генетика (03.02.07) - в диссертационном исследовании изучена динамика молекулярно-генетических изменений в слизистой пищевода у пациентов с ПБ до и после антирефлюксных операций и у больных аденокарциномой пищевода, сформирована и апробирована панель молекулярно-генетических маркеров онкологической прогрессии для оценки эффективности оперативного лечения.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, из них 3 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура

Диссертация изложена на 171 страницах, состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, приложения и списка литературы. Работа иллюстрирована 33 рисунками, содержит 24 таблицы, списка литературы, включающего 143 источника, в том числе 7 отечественных и 136 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование вошли 94 пациента, из них 60 больных рефлюкс-эзофагитом осложненным пищеводом Барретта и 34 - аденокарциномой пищевода, которым было проведено обследование и лечение в Клинике факультетской хирургии имени Н.Н. Бурденко за период с 2013 г. по 2016 г.

Средний возраст больных пищеводом Барретта составил $59,0 \pm 13,9$ лет с аденокарциномой пищевода $57,0 \pm 11,7$ лет.

Среди больных аденокарциномой преобладали пациенты с распространенным опухолевым поражением (табл. 1).

Таблица 1. Распределение больных аденокарциномой пищевода по стадиям (TNM 2009).

Стадия	Число больных, абс.
IA	1
IIA	4
IIB	12
IIIС	9
IV	8

У всех больных развитию рака предшествовала грыжа ПОД с укорочением пищевода и длительно текущим рефлюкс-эзофагитом.

У 18% больных, вследствие укорочения пищевода, опухоль располагалась в среднегрудном отделе пищевода. У 12% больных рак развился на фоне кардиофундальной грыжи.

Всем больным аденокарциномой выполнили экстирпацию пищевода с одномоментной пластикой желудочным трансплантатом используя преимущественно трансхиатальный доступ, как более щадящий. У 7 пациентов с местнораспространенным поражением среднегрудного отдела, пищевод был удален трансторакально.

Лимфаденэктомию в заднем средостении всегда выполняли до бифуркации трахеи, а в брюшной полости в области чревного ствола и основания его ветвей. В среднем удаляли 19 лимфатических узлов из средостения и не менее 21 из брюшной полости.

Гистологически преобладали низко(44%)- и умереннодифференцированная (38%) аденокарциномы.

Результаты морфологического и генетического анализа образцов ткани позволил сформировать набор молекулярно-генетических маркеров, которые

потом применили для динамического изучения изменений в слизистой больных без злокачественной трансформации.

Мы исследовали аномальное метилирование генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3* в материале измененного и неизмененного эпителия, для формирования молекулярно-генетической системы маркеров, оценки состояния эпителия пищевода и мониторинга больных пищеводом Барретта до и после хирургического лечения. Исследуемые гены являются супрессорами опухолевого роста, для которых показано аномальное метилирование при опухолеобразовании, а частота аномального метилирования достаточная для использования в системе.

По мере увеличения стадии аденокарциномы пищевода достоверно нарастало аномальное метилирование выбранных генов, если при ранних стадиях заболевания не всегда выявляли аномальное метилирование, то его определяли у всех больных 3-4 стадии (рис.1). Это доказывает правомочность применения системы генов у больных с эпителием Барретта для оценки риска онкологической прогрессии.

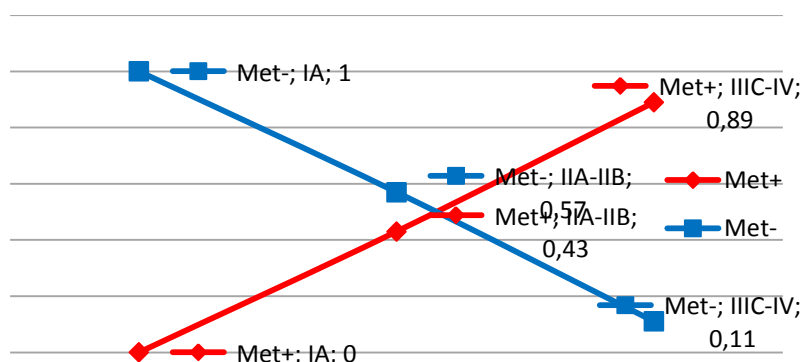


Рисунок 1. Изменение частоты аномального метилирования в зависимости от стадии аденокарциномы пищевода, р.

Основную группу наблюдения (n=60) составили больные с осложненным рефлюкс-эзофагитом и морфологически верифицированным пищеводом Барретта.

План обследования включал: лабораторные методы, рентгенологическое исследование, которому мы отводим основную роль в объективизации топографо-анатомических взаимоотношений области пищеводно-желудочного перехода; эндоскопическое исследование с морфологическим и молекулярно-

генетическим анализом; рентгенологический контроль перед выпиской для оценки состояния сформированной антирефлюксной манжеты.

Отдаленные результаты изучали в сроки до 5 лет после операции, оценивая рентгенологическую и эндоскопическую картину, динамику морфологических и молекулярно-генетических изменений эпителия. Дополнительно оценивали качество жизни больных используя специфический гастроэнтерологический и общий опросники (GSRS и SF36).

У больных пищеводом Барретта рефлюкс-эзофагит всегда возникал на фоне укорочения пищевода и грыжи пищеводного отверстия диафрагмы. Его длительность составляла не менее 7 лет.

У 73% больных была кардиальная грыжа ПОД (табл. 2), при этом у 53% пациентов пищеводно-желудочный переход располагался на 4 см и выше уровня диафрагмы.

Таблица 2. Распределение пациентов по видам грыж ПОД согласно классификации Б.В. Петровского, Н.Н. Каншина, 1965 г.

Вид грыжи ПОД	Число больных
Кардиальная грыжа ПОД	43(72%),
Кардиофундальная грыжа ПОД	6(11%)
Субтотальная грыжа ПОД	3(5%)
Рецидивная грыжа ПОД	8(12%)
Тотальная грыжа ПОД	0
Итого:	60(100%)

Среди пациентов преобладал эрозивно-язвенный рефлюкс-эзофагит (61%), который у 15% привел к развитию пептической стриктуры, что до операции потребовало проведение баллонной дилатации. Морфологические изменения включали метаплазию (53%) и дисплазию (47%) эпителия без признаков облигатного предрака, что позволило делать органосохраняющие антирефлюксные операции. В наблюдении преобладали (70%) короткие (<3см) сегменты эпителия Барретта.

При укорочении пищевода I степени (n=32) выполняли фундопликацию в модификации А.Ф. Черноусова традиционным (n=8) или лапароскопическим (n=24) доступом. Обязательно мобилизовали верхнюю треть малой кривизны, дно и верхнюю треть большой кривизны желудка всегда лигируя заднюю и не

менее 2 коротких артерий. Формировали симметричную антирефлюксную манжету, обязательно фиксируя ее в 4 точках к пищеводу.

При укорочении II степени (n=28) производили клапанную гастропликацию, видоизменив вариант профессора Каншина. Лапароскопическим доступом выполнили 9 вмешательств, традиционным – 19. Сборивали вытянутую в трубку кардию моделируя ее на толстом желудочном зонде по диаметру пищевода. Швы начинали накладывать с задней стенки через большую кривизну, доходя до малой кривизны спереди. Это позволяло собрать кардию равномерно и избежать дивертикулоподобных выпячиваний задней стенки манжеты. Манжету формировали вокруг удлиненной таким образом кардии, обязательно фиксируя ее верхний край к пищеводу в 4 точках.

У 8 пациентов клапанная гастропликация из лапаротомного доступа носила реконструктивный характер после ранее выполненных в других лечебных учреждениях антирефлюксных вмешательств, оказавшихся не эффективными.

Результаты исследования и их обсуждение

Всем 60 (100%) больным пищеводом Барретта провели оперативное лечение в объеме фундопликации в модификации А.Ф. Черноусова или клапанной гастропликации, из традиционного (45%) или лапароскопического (55%) доступа. Выбор тактики зависел от степени укорочения пищевода, вида грыжи пищеводного отверстия диафрагмы и наличия операций на брюшной полости в анамнезе больного. По мере освоения методики и накопления опыта выполнения антирефлюксных вмешательств из лапароскопического доступа, значительно сократился ряд противопоказаний к его использованию.

Развитие ранних послеоперационных осложнений отмечено у 12% больных. Преобладали экстраабдоминальные осложнения, обусловленные наличием у пациентов хронических конкурирующих заболеваний, не связанные напрямую с проведенным оперативным лечением (табл. 3).

Таблица 3. Характер и частота осложнений после операций, выполненных больным ПБ из лапаротомного доступа (n=7*).

Характер осложнений	Число больных
Панкреатит	1
Гастростаз	2

Сегментарная пневмония	1
Нарушение мозгового кровообращения	1
Аритмия	1
Тромбофлебит нижней конечности	1

* в т.ч. больные с сочетанием нескольких осложнений

На дооперационном этапе аномальное метилирование предложенной нами системы генетических-маркеров онкологической прогрессии выявляли у всех больных, как в группе аденокарциномы, так и среди пациентов, не имевших злокачественной трансформации эпителия. Пациенты с аномальным метилированием хотя бы одного гена из предложенной системы, составили группу мет+, а без метилирования - группу мет-. Полученные результаты представлены в таблице (табл. 4).

Таблица 4. Результаты исследования аномального метилирования генов у пациентов с ПБ и АК пищевода.

		Признак (число больных)	Met+	Met-	p
Пациенты		Пищевод Барретта (60)	36	24	н.д.
		Аденокарцинома пищевода (34)	22	12	
Стадии АК (TNM 2009)		IA (2)	-	2	0,0084
		IIA (4)	2	2	
		IIB (10)	4	6	
		IIIС (10)	10	-	
		IV (8)	6	2	
Больные пищеводом Барретта (n=60)					
До лечения	1	Метаплазия (32/60)	15	17	0,0358
		Дисплазия (28/60)	21	7	
	2	Нормальный эпителий (60)	7	53	0,0001
		Измененный эпителий (60)	31	29	
	3	Длинные сегменты (18/60)	17	1	0,0068
		Короткие сегменты (42/60)	19	23	
После лечения	1	Метаплазия (13)	10	3	н.д.
		Дисплазия (5)	5	0	
	2	Нормальный эпителий (60)	4	56	0,0194
		Измененный эпителий (60)	14	46	
	3	Длинные сегменты (6)	4	2	н.д.
		Короткие сегменты (12)	11	1	

н.д. – результаты сравнения не достоверны

По мере развития заболевания, нарастала частота аномального метилирования всей системы маркеров (рис. 2). Метилирование генов *MGMT*, *RUNX3*, *CDHI* оставалось стабильно высоким на всех стадиях процесса, что

подтверждает чувствительность и прогностическую значимость сформированной генетической панели.

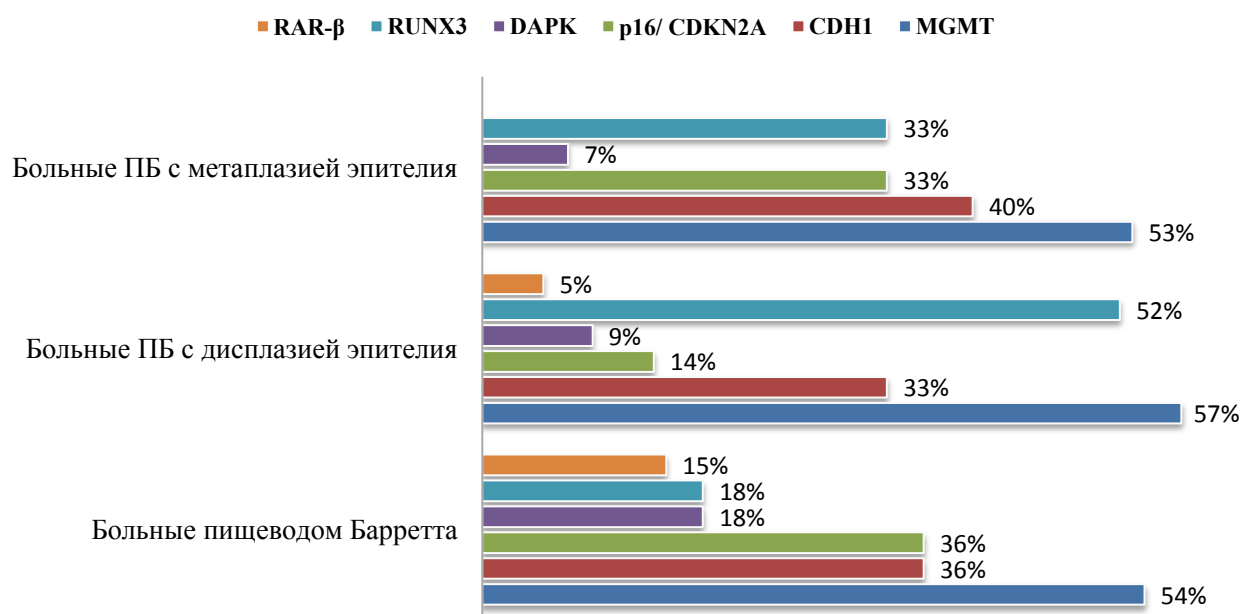


Рисунок 2. Частота аномального метилирования генов в измененном эпителии больных пищеводом Барретта (n=60) и аденокарциномой пищевода (n=34), %.

Достоверно чаще аномальное метилирование встречали в измененном эпителии пищевода, при дисплазии, а так же в длинных сегментах пищевода Барретта (рис.3). В 88% случаев в длинных сегментах пищевода Барретта диагностировали дисплазию, что подтверждает данные о прогрессии ПБ до аденокарциномы пищевода в длинных сегментах.

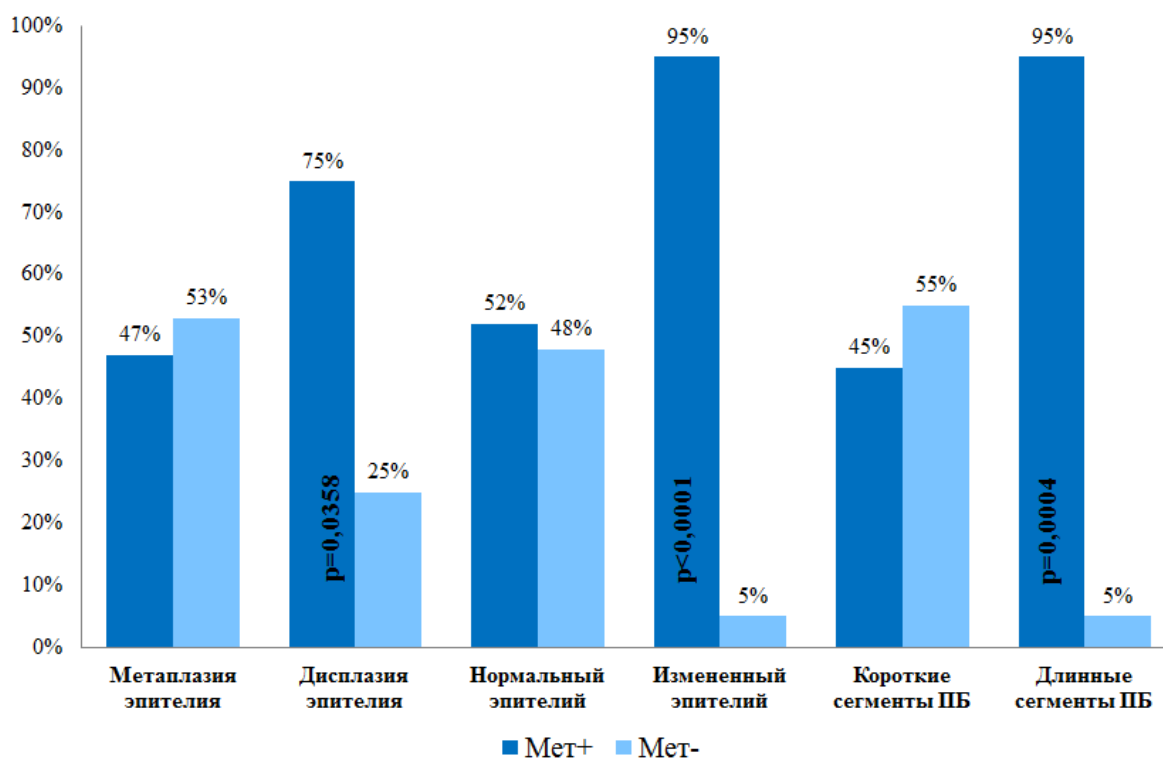


Рисунок 3. Частота аномального метилирования в измененной ткани пищевода, %.

В отдаленном периоде были изучены 92% больных. Ни у одного больного не выявили прогрессии заболевания в аденокарциному пищевода.

Оценивая клинические признаки пищевода Барретта, аналогичные проявлениям рефлюкс-эзофагита, мы не сталкивались с описанными в литературе симптомами, часто возникающими после антирефлюксных операций: дисфагией, вздутием живота, тошнотой, болезненностью в эпигастральной области, неспособностью к отрыжке и рвоте, диареей.

Эндоскопические признаки катарального эзофагита у 15% больных. При этом у 4 больных отмечали уменьшение аномального метилирования на фоне сохранения катаральных изменений, а у 1 пациента сохранилось аномальное метилирование при регрессии дисплазии эпителия до метаплазии. У больного 80 лет наблюдали частичное «развертывание» манжеты вследствие прорезывания фундопликационных швов. Пациенту выполнили медикаментозную коррекцию проявлений рефлюкс-эзофагита с положительным эффектом в виде регрессии дисплазии эпителия до метаплазии при гистологическом исследовании биопсийного материала, и выполнением регулярных (каждые 6 месяцев) контрольных эндоскопических исследований пищевода, в соответствии с общепринятыми клиническими рекомендациями контроля больных пищеводом Барретта. От предложенной реконструктивной операции больной отказался в силу преклонного возраста и высокого риска развития интра-и послеоперационных осложнений на фоне тяжелого общего соматического состояния, а так же сопутствующих заболеваний.

Адекватность выбранной хирургической тактики подтверждается данными о регрессии морфологических изменений эпителия после операции в отдаленном периоде (рис.4). Эффективное устранение патологического рефлюкса привело к регрессии дисплазии и метаплазия эпителия, уменьшению и коротких и длинных сегментов пищевода Барретта.

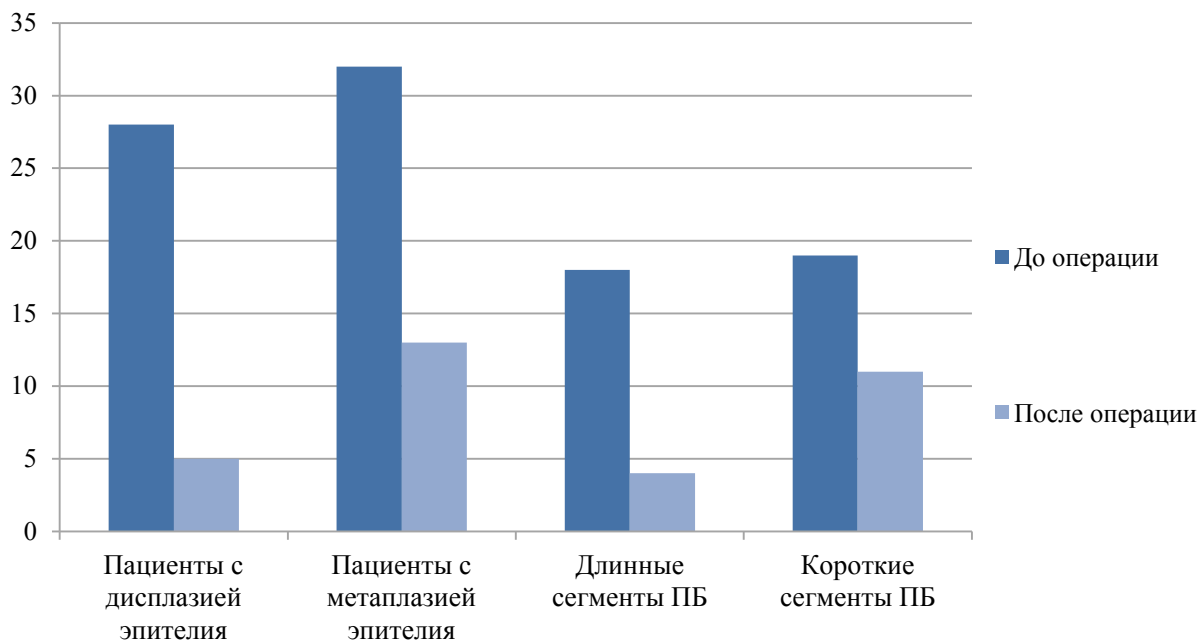


Рисунок 4. Изменение количества больных с дисплазией и метаплазией эпителия, короткими и длинными сегментами ПБ до и после операции, абс.

То, что данные молекулярно-генетического исследования совпадали с эффективностью антирефлюксной операции наглядно демонстрируют результаты полученные у больных после реконструктивных клапанных гастропликаций. Неэффективная манжетка способствовала продолжению воздействия рефлюкса на клетки пищевода, в результате нарастала степень повреждения ДНК клеток, а использование новой антирефлюксной методики привело к нормализации условий клеточной жизни, в результате поврежденные клетки заменились нормальными, что получило отражение в регрессии морфологических изменений.

Среди больных с так называемой триадой 6 из 60(10%) Saint, то есть сочетания грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, желчнокаменной болезни и дивертикулеза кишечника, а так же при сочетании атрофического гастрита, бульбита и/или язвы 12-ти перстной кишки, достоверно чаще наблюдали аномальное метилирование генов ($p=0,0181$).

Специфичность предложенной и исследованной нами панели генетических маркеров (*MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3*) составила 60%, а чувствительность 86%. Таким образом, у больных с аномальным метилированием вероятность прогрессии заболевания почти в 10 раз выше ($OR=9,559$). Исходя из этого молекулярно-генетический анализ можно считать

адекватным способом оценки эффективности выполненного вмешательства, а так же прогноза вероятности развития аденокарциномы.

При изучении в отдаленном периоде качества жизни, отмечали улучшение показателей физического функционирования (**PF**), ролевого функционирования (**RF**), интенсивности боли (**BP**), общего состояния здоровья (**GH**), социального функционирования (**SF**), жизненной активности (**VT**), психического здоровья (**MH**) и ролевого эмоционального функционирования (**RE**) (рис. 5). С учетом оценки общего качества жизни, так же отмечено улучшение большинства показателей независимо от имевшихся у большинства больных тяжелых сопутствующих заболеваний.

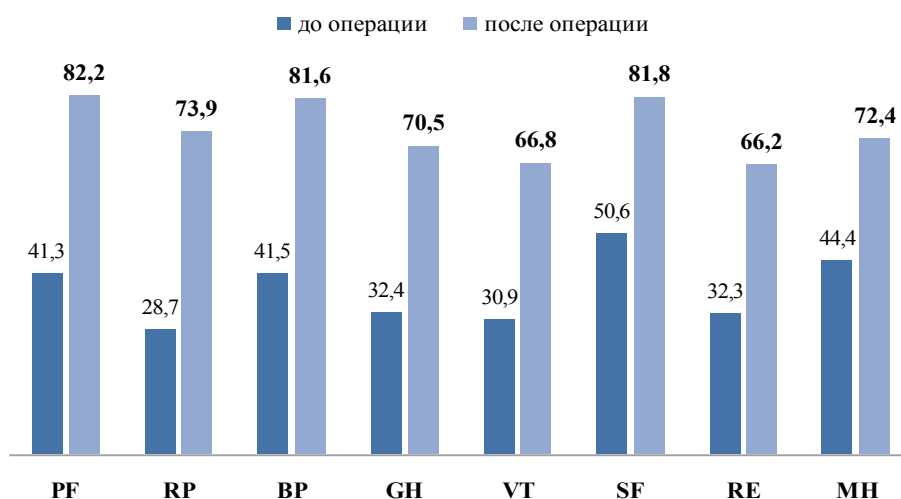


Рисунок 5. Показатели качества жизни по опроснику SF-36 у больных пищеводом Барретта до и после операции, n=57.

Снижение частоты аномального метилирования после выполнения антирефлюксных операций, доказывает высокий потенциал к регенерации слизистой пищевода при устранении основных патогенетических факторов агрессии, что оправдывает правомочность и целесообразность хирургического лечения данной категории больных. Нами показано, что формируемая антирефлюксная манжета эффективно предотвращает патологический рефлюкс, за счет чего улучшается состояние слизистой пищевода.

Анализируя полученные результаты можно предположить, что использование предложенной нами системы молекулярно-генетических маркеров у больных пищеводом Барретта позволит на раннем этапе диагностировать, начать адекватное лечение и осуществлять мониторинг данной

группы пациентов, с целью формирования группы риска развития АК пищевода, что, несомненно, требует внедрения данной панели в клиническую практику.

Проведенное исследование доказало, что выполняемые антирефлюксные операции позволяют устранить патологический пищеводный рефлюкс, создавая тем самым условия для регрессии очагов метаплазии и дисплазии Барретта, исключают возможность прогрессии эпителия в аденокарциному пищевода. Так же, что является крайне важным для больного, оперативное лечение устраняет симптомы рефлюкс-эзофагита, освобождает пациентов от ежедневного приема антисекреторных и гастропротективных препаратов, тем самым повышая их качество жизни.

На основании полученных нами результатов можно утверждать, что в результате выполнения органосохраняющей антирефлюксной хирургии можно снизить риск онкологической прогрессии в пищеводе Барретта.

Выводы

1. Выполняемые нами антирефлюксные операции, в соответствии со степенью укорочения пищевода, эффективны у больных с ПБ с точки зрения коррекции патологического гастроэзофагеального рефлюкса вне зависимости от хирургического доступа, что в отдаленном периоде подтверждается объективными данными инструментального обследования и достоверным улучшением качества жизни пациентов.
2. Показано, что выполнение антирефлюксных операций у больных пищеводом Барретта лапароскопическим доступом, вне зависимости от степени укорочения пищевода и вида грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, снижает количество послеоперационных осложнений и приводит к ускорению реабилитации в послеоперационном периоде.
3. Изучена динамика молекулярно-генетических изменений в слизистой пищевода у пациентов с ПБ до и после антирефлюксных операций. Определено достоверное снижение частоты аномального метилирования генов у пациентов после адекватной антирефлюксной операции ($p=0,0024$). Достоверного различия в частотах метилирования генов у пациентов с ПБ и АК пищевода не выявлено.

4. Для оценки эффективности оперативного лечения пациентов с ПБ сформирована и апробирована панель молекулярно-генетических маркеров, которая включает определение аномального метилирования генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3*.

5. Специфичность предложенной панели генетических маркеров составила 60%, а чувствительность 86%, среди пациентов с аномальным метилированием панели молекулярных маркеров вероятность прогрессии пищевода Барретта почти в 10 раз выше (OR=9,559) по сравнению с больными без аномального метилирования, что доказывает ее прогностическую ценность.

6. У больных пищеводом Барретта без доказанной дисплазии эпителия высокой степени, вне зависимости от степени укорочения пищевода, правомочны органосохраняющие антирефлюксные операции, которые позволяют за счет устранения патологического рефлюкса вызывать регрессию эпителия Барретта, что подтверждается не только при эндоскопическом исследовании, но и молекулярно-генетическом уровне.

Практические рекомендации

1. Пациентам с пищеводом Барретта при отсутствии морфологических признаков дисплазии высокой степени показаны органосохраняющие антирефлюксные операции, при условии создания эффективной манжеты.

2. При отсутствии у пациента множественных операций на брюшной полости в анамнезе и сопутствующих сердечно-легочных заболеваний, препятствующих наложению карбоксиперитонеума операции предпочтительнее выполнять лапароскопическим доступом.

3. В случае диагностированного укорочения пищевода I степени наиболее оправдано применение фундопликации в модификации А.Ф. Черноусова. У больных с укорочением II степени предпочтение следует отдавать клапанной гастропликации.

4. В случае выявления интраоперационно общего пищеводно-аортального отверстия рекомендовано выполнение крурорафии с целью избегания миграции органов брюшной полости в заднее средостение с нарушением адекватного функционирования антирефлюксной манжеты и развития угрожающих жизни

осложнений. В других случаях выполнение круорографии, как и фиксации антирефлюксной манжеты к ножкам диафрагмы не оправдано.

5. Больным пищеводом Барретта до и после операции рекомендовано выполнение молекулярно-генетического анализа образцов слизистой пищевода для наиболее оптимальной оценки риска онкологической прогрессии.

Перспективы дальнейшей разработки темы

- Возможно изучение применения органосохраняющих операций при различной степени дисплазии, с целью оптимизации отдаленных результатов качества жизни больных пищеводом Барретта.
- На базе предложенной панели генов возможно изучение её аномального метилирования при комбинированном лечении больных с применением эндоскопических методов абляции очагов пищевода Барретта и антирефлюксных операций.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Осминин, С.В.** Хирургическое лечение грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, сочетанной с желчнокаменной болезнью/ Черноусов А.Ф., Хоробрых Т.В., Ветшев Ф.П., Мелентьев А.А., **Осминин С.В.**, Мугадзавета Д. // **Вестник хирургической гастроэнтерологии.**– 2013.-№2.- С. 36-43.

2. **Осминин, С.В.** Хирургическое лечение пищевода Барретта с учетом молекулярно-генетического анализа слизистой [Электронный ресурс]/ Черноусов А.Ф., Хоробрых Т.В., Немцова М.В., Ветшев Ф.П., **Осминин С.В.** // Материалы XVIII Съезда РОЭХ.–2015. – Режим доступа: http://12.surgeons.su/tezis_18.php.

3. **Осминин, С.В.** Хирургическое лечение пищевода Барретта с учетом молекулярно-генетических изменений/ Черноусов А.Ф., Хоробрых Т.В., Немцова М.В., Ветшев Ф.П., **Осминин С.В.**, Кашеваров С.Б.// Материалы научно-практической конференции «Успенские чтения», Тверь.- 2015.-С. 90.

4. **Осминин, С.В.** Аномальное метилирования генов MGMT, CDH1, p16/ CDKN2A, DAPK и RAR-β, как возможный маркер онкологической прогрессии пищевода Барретта/ **Осминин С.В.**, Кашеваров С.Б., Вачнадзе Д.И., Ветшев Ф.П.,

Хоробрых Т.В., Немцова М.В.// 19 Российский онкологический конгресс, Москва, 17-19 ноября.-2015.-С. 338-339.

5. **Осминин, С.В.** Хирургическое лечение пищевода Барретта с учетом прогностических возможностей молекулярно-генетического анализа/ Черноусов А.Ф., Хоробрых Т.В., Немцова М.В., Ветшев Ф.П., **Осминин С.В.**, Абдулхакимов Н.М.// **Вестник хирургической гастроэнтерологии.**–2015.- №1-2.-С. 6-12.

6. **Осминин, С.В.** Роль аномального метилирования генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK* и *RAR-1* как возможных маркеров онкологической прогрессии пищевода Барретта при выборе тактики хирургического лечения/ Немцова М.В., Хоробрых Т.В., Ветшев Ф.П., **Осминин С.В.**// Сборник материалов конгресса «Человек и лекарство», Москва, 11-14 апреля.- 2016.- С. 21.

7. **Осминин, С.В.** Молекулярно-генетические изменения в слизистой пищевода как маркеры онкологической прогрессии и оценки эффективности антирефлюксных операций у больных пищеводом Барретта/ **Осминин С.В.**, Ветшев Ф.П., Руденко В.В., Залетаев Д.В., Хоробрых Т.В., Немцова М.В.// **Клиническая лабораторная диагностика.**-2016.-№61(10).-С. 681-685.

Библиотека литературы по функциональной гастроэнтерологии:
www.gastroscan.ru/literature/