

Мамченко Станислав Иванович

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ
ЗОНЫ ПИЩЕВОДНО-ЖЕЛУДОЧНОГО ПЕРЕХОДА
ПРИ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНИ У ДЕТЕЙ**

14.03.02 – патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2015

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Тертычный Александр Семенович

Официальные оппоненты:

Заведующая патологоанатомическим отделением ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» Департамента Здравоохранения города Москвы

доктор медицинских наук

Паклина Оксана Владимировна

Ведущий научный сотрудник клинического отдела ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им Г. Н. Габричевского»

Роспотребнадзора

доктор медицинских наук, профессор

Щербаков Иван Тимофеевич

Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» МЗ РФ

Защита диссертации состоится «___» _____ 2015 года в 12.00 ч. на заседании диссертационного совета Д 001.004.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (117418, Москва, ул. Цюрупы д.3).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» и на сайте <http://www.morfolhum.ru/>

Автореферат разослан “___” _____ 2015 года

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук

Михайлова Лилия Петровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. В настоящее время заболевания пищевода продолжают оставаться в центре внимания педиатров, детских гастроэнтерологов и эндоскопистов, однако многие вопросы морфологической диагностики патологии пищевода до конца не определены. По данным педиатров (Мухаметова Е.М., 2010; Семенюк Л.А., 2008) у каждого третьего ребенка с заболеваниями верхних отделов пищеварительного тракта диагностируется патология пищевода, а частота выявления воспалительных поражений пищевода возросла с 6,4% в 90-е годы до 22% (Видманова Т.А., 2010). Несмотря на достаточно большое число клинических исследований морфологические изменения в пищеводе при его патологии не изучены.

Все авторы сходятся во мнении, что наибольший процент патологии пищевода наблюдается у детей школьного возраста и подростков (Белоусов Ю.А., 2011), у детей младших возрастных групп чаще говорят о рефлюксе, не называя это состояние болезнью до полного формирования у ребенка к 5-7 годам пищеводно-желудочного сфинктера (Дубровская М.И., 2010).

Частота разных эндоскопических форм и гистологических вариантов поражения пищевода точно не установлена и их показатели сильно варьируют (Трухманов А.С., Ивашкин В.Т., 2013). Во многом это связано с используемыми методами диагностики. Диагноз гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) основывается на пищеводных и внепищеводных клинических проявлениях и требует проведения фиброэзофагогастродуоденоскопии (ФЭГДС) с хромоэзофагоскопией и/или биопсией, а также определения кислотообразующей функции желудка (рН-метрия, бичастотная интрагастральная импедансометрия), суточного рН-мониторинга пищевода и желудка и при подозрении на скользящую грыжу пищеводного отверстия диафрагмы контрастной рентгеноскопии верхних отделов ЖКТ.

Биопсия входит в стандарты диагностики болезней пищевода у детей, однако на практике к ней прибегают редко, а интерпретация обнаруженных гистологических изменений затруднена, поэтому в практической работе большинство детских патологоанатомов недостаточно информированы о патоморфологии ГЭРБ. В настоящее время установлены критерии морфологической оценки биоптатов пищевода, полученных у взрослых (Зайратьянц О.В., 2012; Михалева Л.М., 2013), и они используются при анализе изменений в пищеводе у детей без учета их анатомо-физиологических особенностей.

По литературным сведениям зона пищеводно-желудочного перехода (ПЖП) рассматривается и трактуется неоднозначно. По данным О.В. Зайратьянца (2012), наличие цилиндрического эпителия в зоне пищеводно-желудочного перехода рассматривается как проявление рефлюкса и метапластический процесс. По другим сведениям (Трухманов А.С., 2011) кардиальная слизистая оболочка является нормальным проксимальным отделом слизистой оболочки желудка и может иметь протяженность от нескольких миллиметров до 3-4 см. Неоднозначная трактовка выявляемого при морфологическом исследовании железистого эпителия в переходной зоне связана с тем, что зона перехода у плодов и новорожденных не исследована. Морфологическая оценка слизистой оболочки пищеводно-желудочного перехода у плодов и новорожденных могла бы дать важные аргументы в этом споре, однако работ, посвященных данной проблеме мы не обнаружили.

Особенно важным является решение этого вопроса для диагностики пищевода Барретта у детей. До сих пор в литературе нет единого взгляда на критерии диагностики этого крайне опасного в плане развития аденокарциномы пищевода состояния. Поэтому данные о частоте пищевода Барретта как у взрослых, так и у детей значительно варьируют (Герасимова О.С., 2008; Ивашкин В.Т., 2013).

В клинической практике у детей важно не только не пропустить, но и избежать неоправданной гипердиагностики пищевода Барретта. Ранняя диагностика пищевода Барретта необходима для формирования групп риска и дальнейшего клинического наблюдения. В тоже время неоправданная постановка такого диагноза может привести к необоснованным манипуляциям и длительному наблюдению с отрицательным психологическим воздействием на ребенка и его родителей.

Цель исследования. Изучить морфологические изменения слизистой оболочки зоны пищеводно-желудочного перехода при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей для улучшения качества ее диагностики.

Задачи исследования

1. На основе морфологического исследования слизистой оболочки дистального отдела пищевода определить диагностические критерии гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей.
2. Охарактеризовать иммунокомпетентные клетки в многослойном плоском эпителии зоны пищеводно-желудочного перехода у детей.

3. Разработать морфологические критерии поражения слизистой оболочки зоны пищеводно-желудочного перехода, выстланной цилиндрическим эпителием, у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью.
4. Изучить морфологические изменения слизистой оболочки зоны пищеводно-желудочного перехода у плодов и новорожденных.
5. Провести критический анализ и пересмотр дифференциально-диагностических критериев пищевода Барретта у детей.

Научная новизна

Установлены коррелирующие с результатами эндоскопического исследования морфологические диагностические критерии гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей, которыми являются: расширение базального слоя эпителия, межклеточных пространств, повышение содержания внутриэпителиальных лимфоцитов, наличие эозинофилов, обнаружение язв и эрозий.

При гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей в многослойном плоском эпителии выявлены изменения состава иммунокомпетентных клеток, которые характеризуются повышением количества CD3-положительных Т-лимфоцитов и снижением антигенпрезентирующих CD1a-положительных клеток Лангерганса, что обусловлено нарушениями местного афферентного звена иммунного ответа.

Основанием для диагностики пищевода Барретта не является выявление при исследовании биоптатов из зоны пищеводно-желудочного перехода у детей участков, выстланных цилиндрическим эпителием, так как в большинстве случаев это проявление гастроэзофагеальной рефлюксной болезни или инфекции *H. pylori*.

Установлено, что у всех плодов и новорожденных на границе многослойного плоского эпителия и слизистой оболочки тела желудка выявляется слизистая оболочка, покрытая цилиндрическим эпителием, которая имеет сходные иммуногистохимические характеристики с пищеводом Барретта и экспрессирует цитокератин CK7 и муцин MUC5A.

Теоретическая и практическая значимость

На основании морфологического исследования зоны пищеводно-желудочного перехода были пересмотрены, оценены и сопоставлены с результатами эндоскопического исследования диагностические критерии гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и пищевода Барретта у детей.

Морфологическими диагностическими критериями гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей, основанными на изменениях эпителиального пласта и состава его иммунокомпетентных клеток, являются расширение базального слоя и

межклеточных контактов, наличие эрозий и язв, увеличение количества лимфоцитов и клеток Лангерганса и наличие эозинофилов.

При диагностике пищевода Барретта у детей следует учитывать результаты эндоскопического исследования и наличие бокаловидных клеток в биоптате, взятом выше пищеводно-желудочного перехода.

Результаты исследования внедрены в работу патологоанатомических отделений Филатовской и Тушинской детских больниц Департамента здравоохранения г. Москвы и в Централизованном патологоанатомическом отделении Клинического центра Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, а также используются в лекционном курсе кафедры патологической анатомии №1 педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова и кафедры патологической анатомии им. А.И. Струкова Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова.

Положения выносимые на защиту

1. Морфологическими критериями гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей, коррелирующими с результатами эндоскопического исследования, являются: расширение базального слоя эпителия, межклеточных пространств, повышение содержания внутриэпителиальных лимфоцитов, наличие эозинофилов, обнаружение язв и эрозий.

2. При гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей в многослойном плоском эпителии пищевода выявлены изменения состава иммунокомпетентных клеток, которые обусловлены нарушениями местного афферентного звена иммунного ответа.

3. Выявление при исследовании биоптатов из зоны пищеводно-желудочного перехода у детей участков, выстланных цилиндрическим эпителием, не содержащим бокаловидных клеток, не является основанием для диагностики пищевода Барретта.

4. У всех плодов и новорожденных на границе многослойного плоского эпителия и слизистой оболочки тела желудка выявляется слизистая оболочка, покрытая цилиндрическим эпителием.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

В работе использован уникальный биопсийный и секционный материал: были изучены 180 биоптатов пищевода, взятые на 3 и 0.5-1 см выше Z-линии и эндоскопически удаленные и/или биопсированные полипы зоны пищеводно-желудочного перехода, а

также аутопсийный материал пищевода и желудка, полученный от 35 плодов в сроке от 22 недель гестации, и новорожденных в возрасте до 7 дней. Для решения поставленных задач автором использован комплекс современных методов исследования: морфологических, морфометрических, иммуногистохимических с последующей статистической обработкой количественных данных. Полученные в ходе исследования цифровые данные были собраны в электронной таблице Microsoft Excel XP (Microsoft Corp., США) с использованием программы «Statistica 8.0» и соблюдением общих рекомендаций для медицинских и биологических исследований. Перед началом статистической обработки была проведена проверка вариационных рядов на нормальность распределения с помощью метода Колмогорова-Смирнова. Для оценки средних показателей вычислялись медиана и межквартильный размах Me (L 25%; U 75%). Значимость различий между средними величинами и относительными показателями в группах сравнивали с помощью U-теста по методу Манна-Уитни и двухстороннего точного критерия Фишера. Корреляционный анализ проводили с учетом всех полученных в работе данных с использованием метода Pearson (r).

Основные положения диссертации представлены в докладах на XVI, XVII и XXI Конгрессах детских гастроэнтерологов России и стран СНГ "Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей" (Москва, 2009, 2010 и 2014), на всероссийской конференции с международным участием «100-летие российского общества патологоанатомов. Научные чтения, посвященные памяти член-корр., з.д.н. РФ, профессора Олега Константиновича Хмельницкого» (Санкт-Петербург, 2009), на Восьмом Российском Конгрессе «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2009), на Пятнадцатой, Девятнадцатой и Двадцатой Российской Гастроэнтерологической Неделе (Москва, 2009, 2013 и 2014), на XXXIX Сессии ЦНИИГЭ «Междисциплинарный подход к гастроэнтерологическим проблемам» (Москва, 2013), на межкафедральной конференции на кафедре патологической анатомии №1 педиатрического факультета в ГБУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» (Москва, 2015).

По материалам исследования опубликовано 11 научных работ, из них 3 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения и четырех глав: обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов и практические рекомендации; выводы и список литературы. Работа изложена

на 120 страницах машинописного текста и проиллюстрирована 24 рисунками и 18 таблицами. Библиографический указатель включает 197 источников (74 отечественных и 123 иностранных).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Материал для исследования получали из ДГКБ №13 им. Н.Ф. Филатова в период с 2007 по 2010 годы и Университетской детской клинической больницы Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова в период с 2011 по 2013 годы.

При эндоскопическом исследовании проводили забор биоптатов слизистой оболочки пищевода на расстоянии 3 см и 0.5-1 см выше Z-линии. Гистологическую обработку биопсийного материала осуществляли с учетом особенностей работы с биоптатами желудочно-кишечного тракта полученных у детей (Талалаев А.Г., 2008). Использовали следующие методы окраски: гематоксилин и эозин, комбинированная окраска PAS (ШИК-реакция) (для выявления нейтральных муцинов и гликогена) с альциановым синим (рН 2,5) (для выявления кислых муцинов), для выявления в биоптатах *H.pylori* использовали модифицированную окраску по методу Гимза.

Определение индекса массы тела (ИМТ) проводили с учётом возраста и пола в соответствии с рекомендациями ВОЗ (1998). Степень избытка массы тела оценивалась по стандартному отклонению (Standard Deviation Score – SDS) индекса массы тела, являющемуся общепринятым критерием определения избыточной массы тела. Для вычисления этого параметра использовали программу Growth Analyser 3.5 (Dutch Growth Foundation). В качестве критерия оценки степени превышения массы тела у детей использовали рекомендованные ВОЗ значения SDS.

Оценка массы тела в зависимости от SDS индекса массы тела

Масса тела	SDS по ИМТ
Нормальная	-0,99 – +0,99
Избыточная	1,00 – 1,99
Ожирение	Умеренное 2,00 – 2,49
	Морбидное >2,50

При распределении детей по массе тела основную группу составили 50 детей с поражениями пищевода и с избыточной массой тела и ожирением (SDS +1,03+2,72). В группу сравнения были включены 40 детей с поражениями пищевода и нормальной массой тела (SDS -0,90+0,99).

Нами были изучены 180 биоптатов пищевода, взятые на 3 и 0.5-1 см выше Z-линии и эндоскопически удаленные и/или биопсированные полипы зоны пищеводно-желудочного перехода, а также 112 биоптатов желудка (тела и антрального отдела) и двенадцатиперстной кишки, полученные от 90 детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью в возрасте от 7 до 16 лет.

Иммуногистохимическое исследование проводили в соответствии с инструкциями производителя на автостейнере фирмы «ДАКО» (Дания) с использованием моноклональных антител к CD3 (Clone LN10, RTU Novocastra) и CD7 (Clone LP15, RTU Novocastra) – Т-лимфоциты и CD1a (Clone МТВ1, RTU Flex Dako) – дендритные антигенпрезентирующие клетки Лангерганса.

Подсчет позитивно окрашенных клеток в биоптатах слизистой оболочки пищевода осуществляли по цифровым фотографиям гистологических препаратов. Фотографии были получены на микроскопе Olympus BX31, оснащенном камерой с программным обеспечением Olympus, при увеличении 400. Размеры фотографий были определены с помощью объект-микрометра и составили 0,14487 мм² (длина 439 мкм, ширина 330 мкм). При размерах эпителиального пласта, занимающего 3/4, 2/3 или 1/2 площади фотографии, полученное количество клеток на меньшую площадь затем пересчитывали на полную площадь фотографии.

Изучен аутопсийный материал пищевода и желудка, полученный от 35 плодов в сроке от 22 недель гестации, и новорожденных в возрасте до 7 дней. Большинство плодов было исследовано в связи с прерыванием беременности по медицинским показаниям. Ни в одном случае не было отмечено пороков развития плодов и новорожденных, включая пороки желудочно-кишечного тракта, грыжи пищеводного отверстия диафрагмы и диафрагмальные грыжи. Вскрытия были выполнены в 2008-2010 гг. в патологоанатомическом отделении Морозовской ДГКБ Департамента здравоохранения города Москвы.

Во время проведения аутопсии около трети дистальной части пищевода и желудок были иссечены, вскрыты по большой кривизне и в раскрытом виде фиксированы в 10% нейтральном забуференном формалине. Для гистологического исследования взяты участки пищевода и желудка в виде пластин ткани длиной 3-5 см и шириной 0,3-0,5 см. Из каждого случая было исследовано 2-4 таких участка. Затем материал обрабатывали по стандартной гистологической методике и заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Для выявления муцинов была использована комбинированная окраска PAS (ШИК-реакция) и альциановым синим (рН 2,5) (PAS+AB). Для иммуногистохимического исследования были выбраны окраски с антителами к

цитокератину CK7 (Clone OV-TL 12/30, RTU Flex Dako) и муцину MUC5A (Clone 45M1, 1:50 Novocastra). Выбор антител был обусловлен данными литературы о наиболее раннем и достоверном выявлении данных антигенов на ранних этапах эмбрионального и постнатального развития (Piazuelo M.B., 2004). Цитокератины являются составными частями промежуточных филаментов эпителиальных клеток. CK7 полипептид размером 54 кДа обнаруживается в эпителии бронхов, шейки матки, молочной железы и желчных протоков. В норме слабая экспрессия CK7 в покровно-ямочном эпителии желудка снижается в дистальном направлении. При этом экспрессия CK20 имеет тенденцию к снижению в проксимальном направлении. Муцин MUC5AC экспрессируется также как и CK20 в фовеолярном эпителии желудка, но в отличие от CK20 его иммуногистохимическое выявление характеризуется более высокой воспроизводимостью результатов, указанные антитела также используются для диагностики пищевода Барретта (Ormsby A.H., 2000).

Измерения длины кардиального отдела желудка были выполнены на микроскопе Axioskop 40 (фирмы «Zeiss», Германия), оснащенным цифровой камерой AxioCam MRC и программным обеспечением Axiovision 4.7. В тех случаях, когда островки цилиндрического эпителия были выявлены выше зоны перехода, измеряли расстояние от места перехода многослойного плоского эпителия пищевода в цилиндрический эпителий пищевода до проксимальных границ островков. Дистальную границу кардиального отдела желудка определяли по появлению трубчатых желез тела желудка. Точные измерения удалось провести в 18 наблюдениях. В 17 случаях, в которых аутолитические изменения не позволили выполнить точные измерения, была проведена описательная характеристика строения зоны пищеводно-желудочного перехода.

Полученные в ходе исследования цифровые данные были собраны в электронной таблице Microsoft Excel XP (Microsoft Corp., США) с использованием программы «Statistica 8.0» и соблюдением общих рекомендаций для медицинских и биологических исследований. Перед началом статистической обработки была проведена проверка вариационных рядов на нормальность распределения с помощью метода Колмогорова-Смирнова. Для оценки средних показателей вычислялись медиана и межквартильный размах Me (L 25%; U 75%). Значимость различий между средними величинами и относительными показателями в группах сравнивали с помощью U-теста по методу Манна-Уитни и двухстороннего точного критерия Фишера. Корреляционный анализ проводили с учетом всех полученных в работе данных с использованием метода Pearson (r).

Результаты исследования и их обсуждение

Морфологическая характеристика зоны пищеводно-желудочного перехода при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей

По данным эндоскопического исследования верхних отделов пищеварительного тракта признаки эрозивного эзофагита были обнаружены у 18 из 90 детей с ГЭРБ (20%), полипы пищеводно-желудочного перехода были диагностированы в 11% случаев (у 10 из 90 детей) и у 69% детей (у 62 из 90 детей) была выявлена неэрозивная форма ГЭРБ (Рис. 1). По данным эндоскопического исследования ни в одном случае не были выявлены признаки пищевода Барретта. Длительно сохраняющиеся симптомы диспепсии, несоответствие частоты поражений пищевода, диагностированных при проведении фиброгастроуденоскопии, и выявленных жалоб у детей послужили показанием к проведению морфологического исследования слизистой оболочки (СО) пищевода для верификации диагноза.

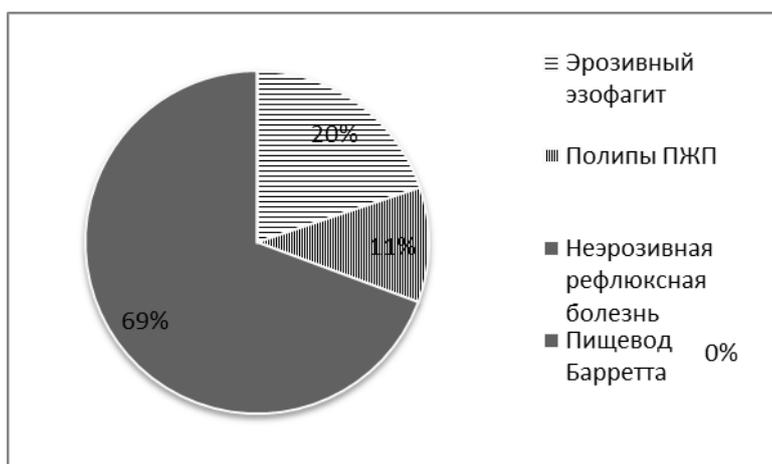


Рис. 1. Структура эндоскопического диагноза у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью

Признаками повреждения эпителиальных клеток многослойного плоского эпителия СО пищевода являлись дистрофические изменения: гиперхромия, деформация, неправильные очертания ядер, крупные гранулы кератогиалина в цитоплазме, вакуолизация цитоплазмы вплоть до появления «баллонных клеток». К наиболее ранним диагностическим признакам поражения СО пищевода мы относили расширение межклеточных пространств между клетками эпителиального пласта, возникающее в результате повреждения межклеточных соединений агрессивным содержимым желудка, попадающим в просвет пищевода при рефлюксе.

При забросе желудочного содержимого в просвет пищевода усиливалось слущивание поверхностного слоя плоского эпителия, что приводило к гиперплазии герминативных клеток базального слоя эпителия и его расширению, которое

верифицировали как утолщение базального слоя больше чем на 25% от толщины всего эпителиального пласта. Постоянный контакт соляной кислоты с многослойным плоским эпителием СО пищевода приводил к удлинению сосочков, которые приближались к поверхности и достигали верхней трети эпителиального пласта. Увеличение количества сосочков – более 5 в поле зрения (при увеличении объектива х 40) также рассматривалось как признак регенераторных изменений. Этот критерий был использован в случаях неправильной ориентации биоптата.

Как воспалительные изменения СО пищевода трактовались в том случае, когда в эпителиальном пласте выявлялись сегментоядерные лейкоциты, чаще всего эозинофилы, а также значительно увеличивалось количество интраэпителиальных лимфоцитов, которые в норме присутствуют в базальных отделах между клетками эпителия. У детей выявление эозинофильных лейкоцитов в биоптате СО пищевода считается высоко чувствительным и специфичным признаком эзофагита, поскольку в норме эти клетки не обнаруживаются (Дубровская М.И., 2010). Повышение числа внутриэпителиальных лимфоцитов, также как и обнаружение эозинофильных лейкоцитов, рассматривались как маркеры рефлюкс-эзофагита.

Проводилось сопоставление полученных морфологических данных с результатами эндоскопического исследования, местом взятия биоптатов (1 или 2 точки) и массой тела ребенка. Частоту обнаруженных изменений оценивали по показателям встречаемости основных морфологических признаков и выражали в процентах (Таблицы 1-3).

При сравнении полученных данных при эрозивной и неэрозивной формах ГЭРБ дистрофические изменения клеток - вакуолизация эпителия, баллонные клетки и полиморфизм ядер, одинаково часто, выявлялись у детей обеих групп на всех уровнях взятия биопсии, что свидетельствовало о протяженности дистрофического процесса в СО дистального отдела пищевода

Частота удлинения сосочков и расширение базального слоя совпадали по проценту обнаружения при эрозивных формах и имели разнонаправленный характер при неэрозивных формах ГЭРБ ($p < 0,01$), что может свидетельствовать о разнородности этой группы и может отражать разные стадии развития патологического процесса (Табл. 1).

Таблица 1. Сравнительный морфологический анализ поражения многослойного плоского эпителия пищевода при эрозивных и неэрозивных формах ГЭРБ

Критерий	Эрозивный эзофагит	Неэрозивный эзофагит
Дистрофические изменения эпителия	36/36 (100%)	132/144(92%)
Расширение межэпителиальных пространств	22/36(60%)	79/144(55%)
Расширение базального слоя эпителиального пласта	22/36(60%)*	107/144(74%)*
Удлинение сосочков	22/36(60%)*	68/144(47%)*
Увеличение количества сосочков	29/36(80%)	118/144(82%)
Внутриэпителиальные иммунокомпетентные клетки	18/36(50%)	76/144(53%)
Внутриэпителиальные эозинофилы	5/36(13%)	23/144(16%)
Обнаружение эрозий и язв	36/36(100%)	0/144(0%)*

* $p < 0,01$

При сравнении результатов полученных на разных уровнях взятия биоптатов частота расширения межэпителиальных пространств и удлинения сосочков в дистальном отделе пищевода у детей обеих групп возрастала по мере приближения к нижнему пищеводному сфинктеру ($p < 0,01$), и в зависимости от уровня забора биоптата у детей увеличивалась с 32 до 56% и с 33 до 81%, соответственно (Табл. 2).

Подобную же тенденцию мы отметили в отношении повышения количества иммунокомпетентных клеток в эпителиальном пласте, которое возрастало с 32 до 56%.

Таблица 2. Сравнительный морфологический анализ изменений многослойного плоского эпителия пищевода на разных уровнях взятия биоптатов

Критерий	Непосредственно над Z-линией	На 2-3 см выше Z-линии
Дистрофические изменения эпителия	85/90 (94%)	78/90 (87%)

Расширение межэпителиальных пространств	50/90 (56%)*	29/90 (32%)*
Расширение базального слоя эпителиального пласта	64/90 (71%)	49/90 (54%)
Удлинение сосочков	73/90 (81%)*	30/90 (33%)*
Увеличение количества сосочков	45/90 (50%)	39/90 (43%)
Внутриэпителиальные иммунокомпетентные клетки	47/90 (52%)*	29/90 (32%)*
Внутриэпителиальные эозинофилы	21/90 (23%)	14/90 (16%)
Обнаружение эрозий и язв	36/90 (40%)*	0/90 (0%)*

*p<0,01

При сравнении данных в группах детей с избыточной и нормальной массой тела полученные результаты соответствовали общей тенденции выявляемости морфологических признаков (Табл. 3). Статистически значимые отличия выявлены по показателям частоты регенераторных изменений, в частности удлинение сосочков, которое было обнаружено в биоптатах, взятых на разных уровнях, а также в повышении содержания иммунокомпетентных клеток в эпителиальном пласте непосредственно над зубчатой Z-линией у детей с избыточной массой тела.

Таблица 3. Сравнительный морфологический анализ поражения многослойного плоского эпителия пищевода на разных уровнях взятия биоптатов у детей с избыточной (ИМТ) и нормальной (НМТ) массой тела

Критерий	Непосредственно над Z-линией		На 2-3 см выше Z-линии	
	ИМТ	НМТ	ИМТ	НМТ
Дистрофические изменения эпителия	48/50(96%)	36/40(90%)	46/50(92%)	32/40(81%)
Расширение межэпителиальных пространств	28/50(56%)	23/40(57%)	15/50(30%)	14/40(35%)

Расширение базального слоя эпителиального пласта	37/50(74%)	27/40(67%)	26/50(51%)	23/40(58%)
Удлинение сосочков	43/50(85%)*	30/40(76%)*	19/50(38%)*	11/40(27%)*
Увеличение количества сосочков	26/50(52%)	19/40(48%)	22/50(43%)	17/40(42%)
Внутриэпителиальные иммунокомпетентные клетки	28/50(56%)*	19/40(48%)*	16/50(32%)	12/40(31%)
Внутриэпителиальные эозинофилы	8/50(15%)	4/40(10%)	3/50(6%)	0/40(0%)
Обнаружение эрозий и язв	21/50(42%)	15/40(38%)	0/50(0%)	0/40(0%)

*p<0,01

Иммуногистохимическая характеристика иммунокомпетентных клеток в многослойном плоском эпителии при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей

Для уточнения характера воспалительных изменений в многослойном плоском эпителии СО пищевода у 40 детей было проведено иммуногистохимическое исследование с определением количества Т-лимфоцитов (CD3/CD7-позитивных) и клеток Лангерганса (CD1a-позитивных). Количество клеток определялось на стандартной площади (n=342 полей подсчета).

Мы провели сравнительный анализ распределения клеток Лангерганса и Т-лимфоцитов в многослойном плоском эпителии СО пищевода у детей в зависимости от места взятия биоптата. Статистической обработке были доступны результаты подсчета биопсийного материала, взятого на уровне 3 см и 0.5-1.0 см выше Z линии: количество Т-лимфоцитов у детей и клеток Лангерганса у детей представлены в таблицах (Табл. 4 и 5).

Таблица 4. Количество Т лимфоцитов в многослойном плоском эпителии слизистой оболочки пищевода у детей на уровне 3 см и 0.5-1.0 см выше Z-линии (на площади 1 мм²)

Группа	Количество полей подсчета	Me (ДИ)	p
Уровень 1 (3 см)	N=127	176	p < 0.004
Уровень 2 (0.5-1.0 см)	N=74	214	

Таблица 5. Количество клеток Лангерганса в многослойном плоском эпителии слизистой оболочки пищевода у детей на уровне 3 см и 0.5-1.0 см выше Z-линии (на площади 1 мм²)

Группа	Количество полей подсчета	Me (ДИ)	p
Уровень 1 (3 см)	N=105	41	p < 0.001
Уровень 2 (0.5-1.0 см)	N=36	21	

Нами выявлены статистически значимые различия в содержании Т-лимфоцитов и клеток Лангерганса в зависимости от места взятия биоптата. Причем если количество Т-лимфоцитов в дистальном направлении увеличивалось, то количество клеток Лангерганса наоборот уменьшалось. Столь неравномерное и разнонаправленное изменение количества клеток может отражать особенности их распределения в норме, это в первую очередь касается клеток Лангерганса, а также повышенную антигенную нагрузку в дистальных отделах пищевода по сравнению с расположенными проксимальнее отделами пищевода при рефлюксе желудочного содержимого.

Мы провели сравнительный анализ результатов подсчета и содержания клеток в многослойном плоском эпителии пищевода в группах с наличием или отсутствием воспалительных (полип) и/или деструктивных (эрозии и язвы) поражений СО пищевода, которые были обнаружены при эндоскопическом исследовании.

Первую группу (эрозивные формы ГЭРБ) составили 12 детей с полипами и/или эрозиями слизистой оболочки пищевода. Количество Т-лимфоцитов и клеток Лангерганса у них было определено на 155 полях подсчета. Вторую группу (неэрозивные формы ГЭРБ) составили остальные 28 детей без полипов и эрозий слизистой оболочки пищевода, количество Т-лимфоцитов и клеток Лангерганса у них было определено на 187 полях подсчета. Результаты подсчета Т-лимфоцитов представлены в таблице 6.

Таблица 6. Количество Т-лимфоцитов в многослойном плоском эпителии слизистой оболочки пищевода у детей с эрозивными и неэрозивными формами изменений пищевода в зависимости от уровня взятия биопсии (на площади 1 мм²)

Группа	Уровень биопсии, количество полей подсчета	Me (ДИ)	Мин-макс	p
Эрозивные	Биопсия 1, N=55	239 (175-290)	48 - 897	p < 0,04

формы ГЭРБ	Биопсия 2, N=33	435 (262-532)	97 - 890	p < 0,001
Неэрозивные формы ГЭРБ	Биопсия 1, N=72	138 (104-179)	10 - 587	p < 0,04
ГЭРБ	Биопсия 2, N=41	159 (124-207)	55 - 421	p < 0,001

У детей с неэрозивными формами ГЭРБ инфильтрация многослойного плоского эпителия Т-лимфоцитами повышалась незначительно в дистальном направлении и была практически одинакова на протяжении 3 см выше Z-линии. В группе с эрозивными формами ГЭРБ на обоих уровнях взятия биопсии плотность клеточного инфильтрата была статистически значимо выше, чем в группе с неэрозивными формами, что свидетельствовало о протяженности длительно текущего воспалительного процесса и о нарастании его интенсивности на уровне 0.5-1 см выше Z-линии (Табл. 6).

Повышенное количество Т-лимфоцитов свидетельствовало о повышении антигенной нагрузки и хроническом иммунном воспалении, сопутствующем полипозным образованиям и эрозиям СО пищевода у детей с ГЭРБ. Иммуногистохимические признаки активации клеточного звена иммунитета были не столь ярко выражены в тех случаях, когда СО пищевода при эндоскопическом исследовании не имела воспалительных и деструктивных изменений (Табл. 6)

Состояние первичного звена неспецифического иммунного ответа было оценено по количеству антигенпрезентирующих клеток Лангерганса в многослойном плоском эпителии СО пищевода детей первой и второй групп (группы с эрозивными и неэрозивными формами ГЭРБ) (Табл. 7).

Таблица 7. Количество клеток Лангерганса в многослойном плоском эпителии слизистой оболочки пищевода у детей с эрозивными и неэрозивными формами изменений пищевода в зависимости от уровня забора материала (на площади 1 мм²)

Группа	Уровень биопсии, количество полей подсчета	Me (ДИ)	Мин-макс	p
Эрозивные формы	Биопсия 1, N=45	46 (35-55)	7 – 176	p < 0,04

ГЭРБ	Биопсия 2, N=22	2 (14-28)	7 – 46	p < 0,001
Неэрозивные формы ГЭРБ	Биопсия 1, N=60	35 (28-46)	7 – 152	p < 0,04
	Биопсия 2, N=14	21 (7-48)	7 – 74	

На уровне 3 см над Z-линией у детей группы с эрозивными формами ГЭРБ количество клеток Лангерганса было статистически значимо выше по сравнению с детьми группы с неэрозивными формами, что возможно отражало место расположения полипа и/или эрозивного дефекта СО пищевода. С приближением к нижнему пищеводному сфинктеру плотность клеточного инфильтрата снижалась у детей обеих групп (Табл. 7).

Таким образом, антигенпрезентирующие клетки Лангерганса участвуют в первичном неспецифическом иммунном распознавании, повышение их количества в слизистой оболочке пищеварительного тракта свидетельствует о течении активного воспалительного процесса, и часто сочетается с обнаружением полипозных образований и эрозивных дефектов.

Морфологические особенности зоны пищеводно-желудочного перехода у плодов и новорожденных

Для того чтобы решить вопрос о существовании переходной зоны между многослойным плоским эпителием пищевода и слизистой оболочкой тела желудка мы изучили зону пищеводно-желудочного перехода при проведении вскрытий у плодов и новорожденных.

Переходной зоной является слизистая оболочка, расположенная между многослойным плоским эпителием пищевода и слизистой оболочкой тела желудка. При ее отсутствии многослойный плоский эпителий пищевода непосредственно переходил в слизистую оболочку тела желудка. По характеристике эпителия железы оценивали как слизистые (син. кардиальные), смешанные (кардиальные железы, содержащие париетальные клетки, кислотообразующий кардиальный тип) и главные (собственные железы желудка, фундальные). При этом смешанные железы по сравнению со слизистыми формировали более прямые трубчатые структуры, в которых определялись отдельные париетальные клетки. Главные железы имели в своем составе главные и париетальные клетки, были расположены более компактно и имели ровную трубчатую форму.

Слизистая оболочка тела желудка у плодов и новорожденных четко определялась и всегда была отделена от эпителия пищевода переходной зоной. Общее количество и тип

желез переходной зоны варьировали в зависимости от гестационного срока. В ранние сроки гестации она была представлена только поверхностным эпителием без желез. Сформированные слизистые железы в составе переходной зоны можно было обнаружить начиная с 24 недель гестации. В последующем в переходной зоне отмечалось преобладание слизистых желез. Ни в одном из исследованных случаев не было обнаружено переходной зоны, содержащей главные железы и воспалительную инфильтрацию в собственной пластинке слизистой оболочки.

Длина переходной зоны варьировала от 1021,88 μm до 2395,13 μm и ее средние значения составили $1696,64 \pm 452,1$ μm . Обращало на себя внимание наличие высоких валиков, выстланных цилиндрическим эпителием. В 7 случаях у плодов в сроке гестации 22-28 недель были выявлены островки цилиндрического эпителия в поверхностных отделах многослойного плоского эпителия пищевода. Данные очаги обнаруживались в проксимальном направлении от места стыка многослойного плоского эпителия пищевода и слизистой оболочки желудка в среднем на участке протяженностью от 487,1 μm до 2752 μm (средний показатель – $1355,7 \pm 973,5$ μm). Островки реснитчатого эпителия на поверхности многослойного плоского эпителия были обнаружены у плодов в сроках 22-24 недели гестации. У плодов в сроке до 23 недель гестации переходная зона содержала участки, представленные только складками слизистой оболочки, покрытыми фовеолярным эпителием и не содержащими желез. У новорожденных таких участков мы не выявили и переходная зона всегда содержала слизистые железы.

Экспрессия СК7 обнаруживалась в покровно-ямочном эпителии переходной зоны. У плодов позитивное окрашивание определяли в шеечном отделе и в части клеток желез. Отмечалось снижение интенсивности окрашивания с увеличением срока гестации, а также в дистальном направлении. Помимо эпителия желудка экспрессия СК7 обнаруживалась в поверхностных слоях многослойного плоского эпителия пищевода. Интенсивность реакции и число слоев позитивно окрашенных клеток снижались с увеличением сроков гестации. MUC5AC характеризовался высокой экспрессией в клетках фовеолярного эпителия переходной зоны. Интенсивная реакция в складках, покрытых покровным эпителием, позволила обнаружить, начиная с 24 недели гестации, появление отдельных неокрашенных клеток в базальных отделах переходной зоны. При PAS-реакции и окраске альциановым синим в клетках покровно-ямочного эпителия, расположенных на границе с многослойным плоским эпителием, у плодов обнаруживались кислые муцины, о чем свидетельствует синевато-фиолетовое окрашивание цитоплазмы клеток.

Длина зоны пищеводно-желудочного перехода не коррелировала со сроком гестации. В тоже время, показатели средней длины переходной зоны у плодов были

больше, чем у новорожденных, но эти отличия оказались статистически недостоверными. Соотношение роста-весовых показателей плодов и новорожденных и длины переходной зоны представлено на диаграммах (Рис. 2).

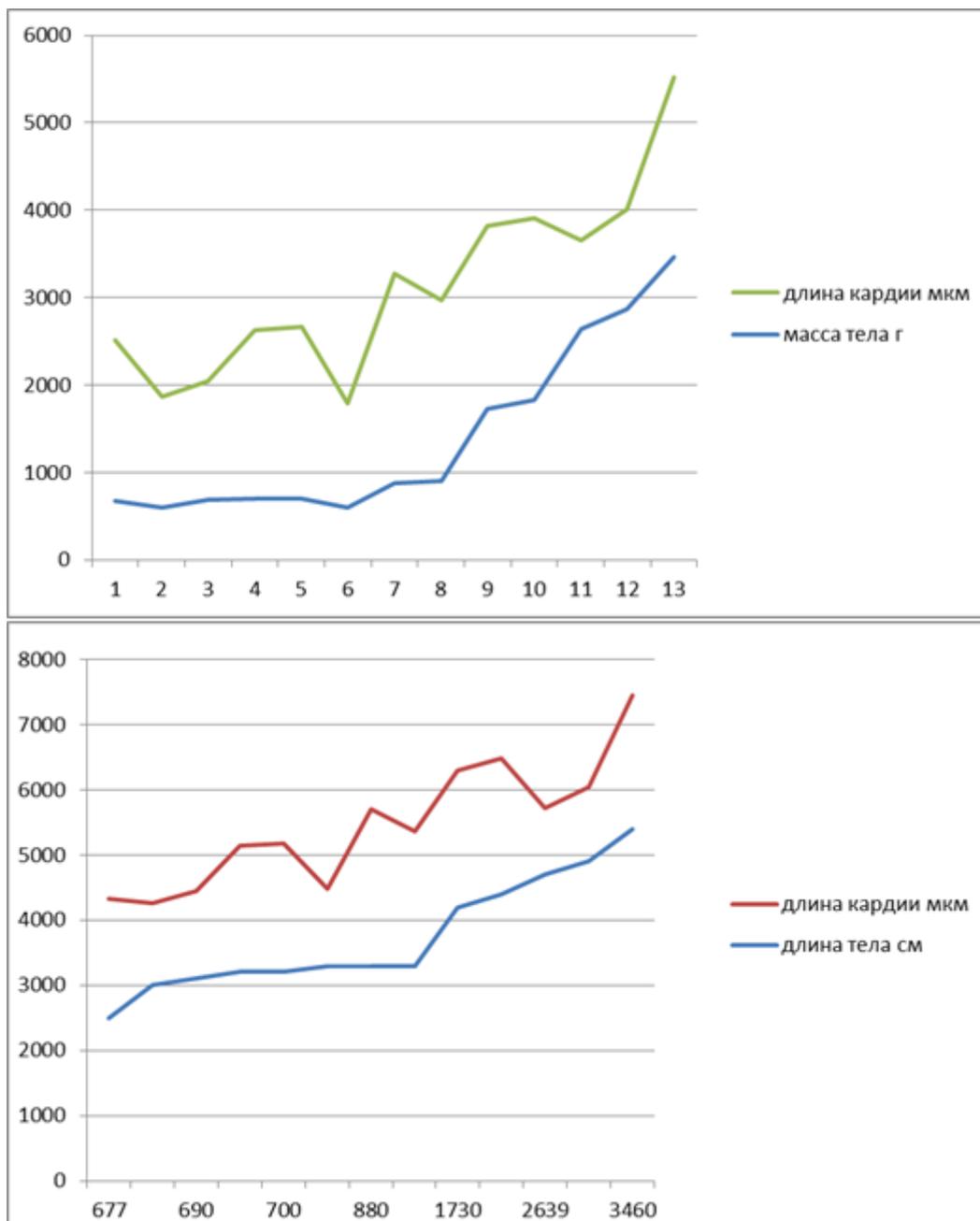


Рис. 2. Диаграмма соотношения роста-весовых показателей плодов и новорожденных и длины кардии

Наблюдается повышение роста-весовых показателей с увеличением срока гестации, при этом длина переходной зоны не имеет такой тенденции и находится в строго очерченных границах.

Морфологическая характеристика слизистой оболочки зоны пищеводно-желудочного перехода, покрытой цилиндрическим эпителием, у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью

Результаты нашего исследования показали, что слизистая оболочка, покрытая цилиндрическим эпителием, была обнаружена в биоптатах, взятых на расстоянии 0.5-1.0 см выше зоны зубчатой линии у 28 из 63 детей (44.4%) и ни в одном из биоптатов, взятых на 3.0 см выше зоны зубчатой линии. Помимо цилиндрического эпителия в биоптатах может обнаруживаться многорядный (10 из 28 больных) и многослойный плоский эпителий (11 из 28 больных). Все три варианта эпителия были представлены в 5 из 28 случаев.

Биоптаты, покрытые цилиндрическим эпителием содержали следующие варианты желез: слизистые (10.7%), слизистые с наличием в составе желез париетальных клеток (25%), и главные железы (14.3%). Если отдельно охарактеризовать данную слизистую оболочку по биоптатам, содержащим участки многослойного плоского эпителия, т.е. слизистую непосредственного примыкающую к Z-линии, то характер желез в зоне перехода оказался следующим – слизистые (20%), слизистые с наличием в составе желез париетальных клеток (10%) и оба варианта желез (30%). В остальных 40% случаев железы в биоптатах не определялись, а выявлялся только цилиндрический эпителий. Слизистую оболочку, состоящую из главных желез и непосредственно переходящую в многослойный плоский эпителий мы не обнаружили.

Воспалительные изменения в слизистой оболочке из зоны пищеводно-желудочного перехода выявлялись в 71.4% случаев. Хроническое воспаление было обнаружено в 42.9%, активное воспаление с преимущественным проникновением в эпителий и скоплениями на поверхности сегментоядерных лейкоцитов в 28.6%, обнаружение в собственной пластинке слизистой оболочки лимфоидных фолликулов и лимфоидных скоплений в 17.9% случаев.

Оказалось, что воспаление в подавляющем большинстве случаев (82.1%) наблюдалось при наличии *H. pylori* ($p < 0.001$), определяемого по результатам экспресс-теста во время проведения эндоскопического исследования. Морфологически подтвержденный хеликобактериоз по результатам изучения биоптатов антрального отдела желудка наблюдался только в половине этих случаев. Активное воспаление с большим количеством лейкоцитов и наличие лимфоидных фолликулов и скоплений в подавляющем большинстве случаев также коррелировали с поражением антрального отдела желудка *H. pylori*, причем сам возбудитель в слизистой оболочке кардиального отдела не обнаруживался даже при применении высокочувствительного иммуногистохимического

метода обнаружения возбудителя с использованием моноклональных антител. Выраженность эндоскопических изменений не зависела от увеличения частоты выявления зон слизистой оболочки, покрытых цилиндрическим эпителием, которые обнаруживались намного чаще при неэрозивных формах ГЭРБ (75% против 25% при эрозивных эзофагитах).

В 8 из 28 случаях воспалительные изменения были минимальными. Некоторые авторы даже предлагают не рассматривать данные изменения как воспалительные и считают, что в зоне пищеводно-желудочного перехода слизистая оболочка может в норме иметь рассеянную лимфоцитарную инфильтрацию (Langner С., 2011).

По результатам нашего исследования основным фактором, ответственным за развитие воспалительных изменений в слизистой оболочке пищеводно-желудочного перехода у детей является *H. pylori*. В последнее время обсуждается вопрос о возможной связи антихеликобактерной терапии с развитием и прогрессированием воспаления этой зоны. Есть даже точка зрения, согласно которой *H. pylori* препятствует развитию рефлюкс-эзофagита путем снижения выработки соляной кислоты (Schwizer W., 2013). Данная точка зрения не поддерживается большинством исследователей (Odze R.D., 2006; Chandrasoma P.T., 2013 и др.) С другой стороны по данным многих отечественных авторов в детской популяции высокий уровень инфицированности *H. pylori* (Щербаков П.Л., 2010) и большинство детей в нашем исследовании не стали исключением. Поэтому данная связь может отражать ситуацию в исследуемой популяции. Помимо *H. pylori* в нашем исследовании мы отметили связь между воспалительными изменениями в слизистой оболочке пищеводно-желудочного перехода и избыточной массой тела ребенка. В этом наши результаты согласуются с данными об увеличении длины кардии у больных с центральным типом ожирения в результате попадания и длительного нахождения желудочного сока в зоне пищеводно-желудочного перехода (Robertson E., 2013). Мы не обнаружили повышения частоты выявления слизистой оболочки, покрытой цилиндрическим эпителием у больных с эрозивными вариантами ГЭРБ по сравнению с неэрозивными.

Если в качестве классического определения ПБ использовать обнаружение цилиндрического эпителия в дистальных отделах пищевода, то все наши случаи можно рассматривать как случаи ПБ, и тогда в нашем исследовании частота встречаемости ПБ составит 44.4%. В этом наши данные совпадают с результатами, полученными Герасимовой Н.В. с соавт. (2006), которые при обследовании 109 детей с длительно незаживающими дефектами нижней трети пищевода и Z-линии обнаружили желудочную и кишечную метаплазию у 24 (22.02%) и 26 (23.85%) детей, соответственно.

Если использовать критерии, требующие обязательного присутствия бокаловидных клеток, то в нашем исследовании ПБ может быть диагностирован только в одном наблюдении, т.е. в 1.58% случаев.

Если учитывать функциональные характеристики слизи и обнаружение кислых муцинов в цитоплазме цилиндрических клеток, то всего таких случаев с учетом случая с позитивным окрашиванием цитоплазмы бокаловидных клеток в нашем исследовании будет 5 и процент обнаружения ПБ возрастет до 7.9%.

Согласно принятому на сегодняшний день определению ПБ диагноз должен быть обязательно первоначально установлен эндоскопически, а потом подтвержден морфологически. В нашем исследовании эндоскопист не обнаружил эндоскопических признаков ПБ у больного, у которого при гистологическом исследовании была обнаружена кишечная метаплазия. Формально с учетом отсутствия эндоскопических данных диагноз ПБ не правомочен, тем более что при повторном эндоскопическом исследовании в повторно взятых множественных биоптатах кишечная метаплазия не была обнаружена.

Заключение

Проведенное морфологическое исследование показало, что дистрофические изменения СО пищевода носили распространенный характер, обнаруживались у большинства детей и не зависели от массы тела. Регенераторные изменения слизистой оболочки пищевода выявлялись у половины детей обеих групп, признаки хронического воспаления встречались менее чем у половины детей, и частота их также не зависела от массы тела ребенка

Частота всех изученных изменений СО пищевода убывала в проксимальном направлении и была максимальной в непосредственной близости к нижнему пищеводному сфинктеру. Эти морфологические признаки свидетельствовали о наличии постоянного невысокого рефлюкса желудочного содержимого в просвет пищевода у детей, что находило свое отражение в существенном преобладании регенераторных процессов над воспалительными.

Морфологические признаки рефлюкс-эзофагита у детей с избыточной массой тела обнаруживались в 1,5 чаще, чем у детей с нормальной массой тела (78 и 52% соответственно, различия статистически не значимы), что в дальнейшем может трансформироваться в ГЭРБ, описанную у взрослых с ожирением. При эрозивном эзофагите умеренно выраженные и тяжелые изменения СО пищевода среди детей достигали 20%, что свидетельствует об очаговости поражения и в большей степени обусловлено местом взятия биоптата.

Проведенное иммуногистохимическое исследование воспалительных и эрозивных изменений СО пищевода показало статистически значимое повышение количества Т лимфоцитов в эпителиальном слое СО дистального отдела пищевода, соответствующем месту поражения. Также непосредственно вблизи месторасположения полипа и/или эрозивного дефекта слизистой оболочки пищевода увеличивалось количество антигенпрезентирующих клеток Лангерганса.

Показано, что слизистая оболочка переходной зоны, покрытая цилиндрическим эпителием, появляется до рождения в процессе нормального эмбрионального развития. Выявлено наличие островков цилиндрического эпителия и участки, содержащие реснитчатые клетки на поверхности многослойного плоского эпителия пищевода, что свидетельствует о неравномерных процессах дифференцировки многослойного плоского эпителия, который продолжается вплоть до рождения. Важно подчеркнуть, что для периода новорожденности как раз характерны рефлюксы, которые могут быть ответственными за окончательное формирование переходной слизистой оболочки и ее изменений в период постнатального развития. Эти участки незрелого эпителия можно рассматривать как зоны возможной трансформации как в направлении многослойного плоского, так и цилиндрического эпителия.

Переходная слизистая оболочка, покрытая цилиндрическим эпителием, содержащая слизистые железы и слизистые железы с париетальными клетками, часто обнаруживается у детей в зоне пищеводно-желудочного перехода при отсутствии макроскопически видимых изменений в локализации и характеристике зубчатой линии, что может свидетельствовать о ее присутствии как варианте гистологической нормы. Нельзя также полностью исключить, что ее появление связано с хеликобактериозом. Полученные нами данные, показывают связь состава желез и воспаления с инфицированностью *H. pylori*. Характер эндоскопических изменений и активный эрозивный эзофагит в меньшей степени были связаны с частотой обнаружения кардии. Хотя и не исключают, что повреждение и регенерация, связанные с рефлюксом, могут определять морфологическую характеристику кардии. В этом отношении представляют интерес данные о более частом обнаружении кардии у больных с избыточной массой тела, что с одной стороны может указывать на связь с рефлюксом, а с другой стороны – на необходимость дальнейшего поиска факторов, которые могут быть ответственны за развитие патологических изменений в зоне пищеводно-желудочного перехода у детей.

В практической работе патологоанатом не всегда имеет в распоряжении результаты и протокол эндоскопического исследования. Поэтому можно предположить, что критерий в виде обнаружения бокаловидных клеток выбран с учетом вышеописанного сценария,

когда необходимо выделить группы больных, требующие последующего динамического наблюдения с регулярным проведением эндоскопических исследований и взятием множественных биопсий. По поводу использования дополнительных гистохимических критериев, то позитивно окрашивающиеся цилиндрические клетки получили название псевдобокаловидных и не были приняты в качестве критерия постановки ПБ.

ВЫВОДЫ

1. Морфологические проявления гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей характеризуются регенераторными и дистрофическими изменениями эпителиального слоя слизистой оболочки пищевода.
2. При эрозивных формах рефлюкс-эзофагита у детей с избыточной массой тела его морфологические признаки статистически значимо чаще выявляются на уровне 1 см выше Z-линии по сравнению с уровнем 3 см выше Z-линии.
3. При локализации рефлюкс эзофагита на уровне 1 см выше Z-линии в эпителиальном пласте повышается количество внутриэпителиальных CD3-позитивных Т-лимфоцитов и снижается количество антигенпрезентирующих CD1a-позитивных клеток Лангерганса, что свидетельствует о повышенной антигенной нагрузке при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.
4. Эрозивные поражения и полипы слизистой оболочки дистального отдела пищевода у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью характеризуются статистически значимым повышением количества CD3-позитивных Т-лимфоцитов, и антигенпрезентирующих CD1a-позитивных клеток Лангерганса.
5. Слизистая оболочка переходной зоны, покрытая цилиндрическим эпителием, всегда выявляется у плодов и новорожденных в норме, что подтверждает ее формирование до рождения в процессе нормального эмбрионального развития. По гистохимическим и иммуногистохимическим характеристикам зона пищеводно-желудочного перехода соответствует таковой при пищеводе Барретта у взрослых.
6. Слизистая оболочка переходной зоны, покрытая цилиндрическим эпителием и содержащая слизистые железы без или с париетальными клетками, статистически значимо чаще обнаруживается в зоне пищеводно-желудочного перехода у детей, инфицированных *H. pylori* и имеющих избыточную массу тела.
7. Пищевод Барретта, полностью соответствующий принятым на сегодняшний день диагностическим морфологическим и эндоскопическим критериям, у детей встречается крайне редко – менее чем в 2% наблюдений и должен рассматриваться в детском возрасте как диагноз исключения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При проведении эндоскопического исследования верхних отделов пищеварительного тракта у детей следует рекомендовать взятие и последующее морфологическое изучение биоптатов слизистой оболочки пищевода на 1 и 3 см выше Z-линии для уточнения и объективизации обнаруженных изменений.
2. Морфологическими критериями диагностики гастроэзофагеальной рефлюксной болезни в детском возрасте являются расширение базального слоя и межклеточных контактов, наличие эрозий и язв, увеличение количества лимфоцитов и клеток Лангерганса и наличие эозинофилов.
3. Диспансерное наблюдение за динамикой состояния слизистой оболочки пищевода при эндоскопическом обнаружении полипов и эрозий слизистой оболочки пищевода должно включать морфологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов полипов и эрозий с целью определения активности текущего воспалительного процесса.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. М.И. Дубровская, А.С. Тертычный, Ю.Г. Мухина, И.И. Володина, С.И. Мамченко. Морфологические изменения слизистой оболочки пищевода у детей с избыточной и нормальной массой тела. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2010. – №1. – С. 31-36.
2. А.С. Тертычный, Д.А. Жакота, С.И. Мамченко А.И. Андреев, Герт Де Хертог. Морфологические особенности зоны пищеводно-желудочного перехода у плодов и новорожденных. // Архив патологии. – 2012. – Том 74. - №3. – С. 40-47.
3. А.С. Тертычный, С.И. Мамченко, М.И. Дубровская, Н.Р. Петросян, М.А. Квиркелия, П.М. Цветков, А.В. Красавин, Н.С. Маренич. Морфологическая характеристика слизистой оболочки зоны пищеводно-желудочного перехода у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – №1. – С. 30-34.
4. А.С. Тертычный, М.И. Дубровская, Ю.Г. Мухина, И.И. Володина, Н.Р. Петросян, С.И. Мамченко. Морфологические критерии диагностики эзофагита на материале эндоскопических биопсий у детей. // Материалы XVI Конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ "Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей". – Москва, 17-19 марта 2009г. – Под общей редакцией проф. Ю.Г. Мухиной и проф. С.В. Бельмера. – М.: Изд. Медпрактика-М, 2009. – С. 129-130.
5. А.С. Тертычный, Д.А. Жакота, С.И. Мамченко. Морфологические особенности зоны гастроэзофагеального перехода у плодов и новорожденных. // Материалы всероссийской конференции с международным участием «100-летие российского общества патологоанатомов. Научные чтения, посвященные памяти член-корр., з.д.н. РФ, профессора Олега Константиновича Хмельницкого», 9-10 октября 2009 года, Санкт-Петербург. – С. 305-306.
6. А.С. Тертычный, С.И. Мамченко. Морфологическая диагностика кардита при изучении биопсий пищевода. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2009. - Том XIX - № 5 (Приложение № 34. Материалы Пятнадцатой Российской Гастроэнтерологической Недели, 12-14 октября 2009г., Москва). - С. 15.
7. А.С. Тертычный, С.И. Мамченко. Современные подходы в морфологическом изучении биопсий пищевода. // Материалы Восьмого Российского Конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии». - Москва, 20-22 октября 2009г. - С. 53.

8. А.С. Тертычный, Д.А. Жакота, **С.И. Мамченко**. Морфологическая и гистохимическая характеристика зоны гастроэзофагеального перехода у плодов и новорожденных. // Материалы XVII Конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ "Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей". – Москва, 10-12 марта 2010г. – Под общей редакцией проф. Ю.Г. Мухиной и проф. С.В. Бельмера. – М.: Изд. Медпрактика-М, 2010. – С. 100-102.
9. **С.И. Мамченко**, А.С. Тертычный. Морфологическая характеристика зоны пищеводно-желудочного перехода при изучении биопсий пищевода. // Сборник тезисов XXXIX Сессии ЦНИИГЭ «Междисциплинарный подход к гастроэнтерологическим проблемам», 5-6 марта 2013г., Москва. - С. 36-37.
10. **С.И. Мамченко**, А.С. Тертычный, М.И. Дубровская, Н.Р. Петросян, М.А. Квиркелия, П.М. Цветков, А.В. Красавин, Н.С. Маренич. Морфологическая характеристика слизистой оболочки зоны пищеводно-желудочного перехода и критерии диагностики пищевода Барретта у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью. // Материалы XXI Международного Конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ "Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей". – Москва, 18-20 марта 2014г. – Под общей редакцией проф. С.В. Бельмера и проф. Л.И. Ильенко. – М.: Изд. Медпрактика-М, 2014. – С. 69-71.
11. **С.И. Мамченко**, А.С. Тертычный. Пищевод Барретта у детей: миф или реальность? // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2014. - Том XIX - № 5 (Приложение № 34. Материалы Пятнадцатой Российской Гастроэнтерологической Недели, 12-14 октября 2014г., Москва). - С. 15.

Соискатель

С.И. Мамченко