

ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Мамченко Станислав Иванович

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

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

14.03.02 – патологическая анатомия

Научный руководитель –
д.м.н. Тертычный Александр Семенович

Москва 2015

Оглавление

Введение	с. 4
Глава 1. Обзор литературы	с. 11
Глава 2. Материалы и методы	с. 32
Глава 3. Результаты собственных исследований	с. 39
3.1. Морфологическая характеристика зоны пищеводно-желудочного перехода при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей	с. 39
3.2. Иммуногистохимическая характеристика иммунокомпетентных клеток в многослойном плоском эпителии	с. 50
при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей	
3.3. Морфологические особенности пищеводно-желудочного перехода у плодов и новорожденных	с. 61
3.1. Морфологическая характеристика зоны пищеводно-желудочного перехода, покрытой цилиндрическим эпителием,	
при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей	с. 71
Глава 4. Обсуждение полученных результатов	с. 83
Заключение	с. 96
Выводы	с. 99
Практические рекомендации	с. 101
Список литературы	с. 102

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВОПТ	–	верхние отделы пищеварительного тракта
ГЭР	–	гастроэзофагеальный рефлюкс
ГЭРБ	–	гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь
ДГР	–	дуоденогастральный рефлюкс
ДПК	–	двенадцатиперстная кишка
ЖКТ	–	желудочно-кишечный тракт
ИГХ	–	иммуногистохимия
МЭП	–	межэпителиальные пространства
НПС	–	нижний пищеводный сфинктер
НЭРБ	–	неэрозивная рефлюксная болезнь
ПБ	–	пищевод Барретта
ПЖП	–	пищеводно-желудочный переход
ПЖС	–	пищеводно-желудочное соединение
ПЯЛ	–	палочкоядерные лейкоциты
СО	–	слизистая оболочка
ФЭГДС	–	фиброэзофагогастродуоденоскопия
ЭГДС	–	эзофагогастродуоденоскопия
Z-линия	–	зубчатая линия
ЯБ	–	язвенная болезнь
ЯБДК	–	язвенная болезнь 12-перстной кишки.

Введение

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 [62; 52] 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% [11;12]. 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 [8], у детей младших возрастных категорий чаще говорят о рефлюксе не называя это состояние болезнью до полного формирования у ребенка к 5-7 годам пищеводно-желудочного сфинктера [20].

Частота разных эндоскопических форм и гистологических вариантов поражения пищевода точно не установлены и их показатели сильно варьируют [27;28;68]. 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 [23;24;48;49], и они используются при анализе изменений в пищеводе у детей без учета их анатомо-физиологических особенностей.

По литературным данным зона пищеводно-желудочного перехода (ПЖП) рассматривается и трактуется неоднозначно. По данным О.В. Зайратьянца [23], наличие цилиндрического эпителия в зоне пищеводно-желудочного перехода рассматривается как проявление рефлюкса и метапластический процесс. По другим сведениям [68] 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 [16;22;24;28].

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 СК7 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.

Методология и методы диссертационного исследования

Заключалась в системном подходе и комплексном анализе результатов морфологических методов исследования и их обязательном сопоставлении с результатами эндоскопического метода исследования. Был проведен критический анализ научных

трудов отечественных и зарубежных ученых в области патоморфологии, педиатрии, гастроэнтерологии и эндоскопии, который потребовал дополнительного изучения зоны пищеводно-желудочного перехода у плодов и новорожденных для решения вопроса о приобретенных и имеющихся с рождения изменений и характеристик покровного эпителия и слизистой оболочки.

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. Использовали следующие методы окраски: гематоксилин и эозин, комбинированная окраска PAS (ШИК-реакция) (для выявления нейтральных муцинов и гликогена) с альциановым синим (pH 2,5) (для выявления кислых муцинов), для выявления в биоптатах *H. pylori* использовали модифицированную окраску по методу Гимза.

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 MTB1, RTU Flex Dako) – дендритные антигенпрезентирующие клетки Лангерганса.

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.

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).

Глава 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) согласно определению ВОЗ — заболевание, характеризующееся развитием воспалительных изменений слизистой оболочки дистального отдела пищевода и/или характерных клинических симптомов вследствие повторяющегося заброса в пищевод желудочного и/или дуоденального содержимого.

В 1999 г. ГЭРБ официально вошла в Международную классификацию болезней 10-го пересмотра (рубрика K21) и подразделяется на ГЭРБ с эзофагитом (K21.0) и ГЭРБ без эзофагита (K21.1)

К 21.0 Гастроэзофагеальный рефлюкс с эзофагитом.

К 21.9 Гастроэзофагеальный рефлюкс без эзофагита.

Клинические проявления ГЭРБ очень многообразны, могут характеризоваться как пищеводными, так и широким спектром внепищеводных симптомов. Течение заболевания в ряде случаев носит волнообразный характер, с периодами обострения и относительной ремиссии, когда ребенок не предъявляет жалоб. К тому же, трактовка жалоб детей, особенно младшего возраста, может быть неоднозначной. Имеет значение и то, что проведение инвазивных методов обследования — эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) и рНметрии — у клинически здоровых детей затруднительно с этической точки зрения. Тем не менее, их результаты необходимы для точной диагностики и сбора объективных эпидемиологических данных. Поэтому истинная распространенность ГЭРБ в детской популяции неизвестна, а разработка более четких критериев диагностики затруднительна.

Основываясь на материалах изученной литературы, стоит признать, что для выявления эзофагита считаются более объективными данные эндоскопического исследования. Большинство работ, освещающих распространенность ГЭРБ и эзофагитов у детей, базируется на результатах ЭГДС.

К сожалению, научных работ с глубоким и современным морфологическим исследованием у детей чрезвычайно мало.

В ходе эндоскопического исследования есть возможность оценить состояние слизистой оболочки пищевода, а также степень выраженности моторных нарушений в области пищеводно-желудочного перехода.

Для наиболее объективной оценки отечественные исследователи предлагают пользоваться эндоскопическими критериями G.Tytgat (1990) в модификации В.Ф. Приворотского [57;58;59].

СИСТЕМА ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ГЭР У ДЕТЕЙ

Морфологические изменения.

I степень

Умеренно выраженная очаговая эритема и (или) рыхлость слизистой абдоминального отдела пищевода.

II степень

То же + тотальная гиперемия абдоминального отдела пищевода с очаговым фибринозным налетом и возможным появлением одиночных поверхностных эрозий, чаще линейной формы, располагающихся на верхушках складок слизистой.

III степень

То же + распространение воспаления на грудной отдел пищевода. Множественные (иногда сливающиеся) эрозии, расположенные не циркулярно. Возможна повышенная контактная ранимость слизистой.

IV степень

Язва пищевода. Синдром Барретта. Стеноз пищевода.

Моторные нарушения.

А. Умеренно выраженные моторные нарушения в области НПС (подъем Z-линии до 1 см), кратковременное провоцированное субтотальное (по одной из стенок) пролабирование на высоту 1-2 см., снижение тонуса НПС.

В. Отчетливые эндоскопические признаки недостаточности кардии, тотальное или субтотальное провоцированное пролабирование на высоту более 3 см с возможной частичной фиксацией в пищеводе.

С. То же + выраженное спонтанное или провоцированное пролабирование выше ножек диафрагмы с возможной частичной фиксацией

Во многом данная классификация отражает принципы классификации эзофагитов у взрослых, которая была принята на Всемирном гастроэнтерологическом конгрессе в Лос-Анджелесе в 1994 году и используется наиболее широко.

Лос-Анджелесская классификация рефлюкс-эзофагита.

Степень А

Одно (или более) поражение слизистой оболочки (эрозия или изъязвление) длиной менее 5 мм, ограниченное пределами складки слизистой оболочки.

Степень В

Одно (или более) поражение слизистой оболочки длиной более 5 мм, ограниченное пределами складки слизистой оболочки.

Степень С

Поражение слизистой оболочки распространяется на 2 и более складки слизистой оболочки, но занимает менее 75% окружности пищевода.

Степень D

Поражение слизистой оболочки распространяется на 75% и более окружности пищевода.

Известно, что большинство больных ГЭРБ (55%) не имеет эндоскопических признаков эзофагита, а среди больных эрозивной рефлюксной болезнью более чем у 80% наблюдается эзофагит степеней А или В (ограниченные повреждениями слизистой оболочки более 5 мм длиной, расположенными на вершинах складок пищевода и не распространяющимися на межскладочные пространства). Эзофагит степени D (выраженный, с повреждениями слизистой оболочки, распространяющимися на межскладочные пространства и занимающие в сумме три четверти и более окружности пищевода) наблюдается только в 5-6% случаев эрозивной ГЭРБ. По данным некоторых исследований, доля больных НЭРБ в структуре ГЭРБ в последнее время увеличилась до 65-70% [88]. У детей частота эндоскопически негативной ГЭРБ составляла 56%, при наличии кислого рефлюкса эндоскопически негативная ГЭРБ обнаруживалась в 38% наблюдений, а при наличии щелочного рефлюкса - в 17,5% [4]. Яркие симптомы диспепсии, проявлявшиеся изжогой у 60% пациентов, отрыжкой у половины больных, тошнотой и рвотой у 30%, при эндоскопическом исследовании при этом были выявлены единичные эрозии в пищеводе лишь в 13%, у остальных детей был диагностирован катаральный эзофагит.

Проведение 24 pH-метрии выявило патологический гастроэзофагеальный рефлюкс у 80% детей [16].

Среди детей и подростков от 6 до 18 лет с патологией органов пищеварения эндоскопически позитивная ГЭРБ встречается в 30,4%. В её структуре катаральные эзофагиты занимают 81,8%, а эрозивно-язвенные эзофагиты – 18,2%. У детей с рефлюкс-эзофагитом степень А диагностировалась в 69,1%, степень В - в 28,2%, осложненная форма ГЭРБ в виде язвенных поражений пищевода составила 15,5% от всех деструктивных форм рефлюкс-эзофагита [75].

У детей с эрозивно-язвенным рефлюкс-эзофагитом полипы пищевода и кардиоэзофагеального перехода выявлены в 27,2% [75]. Непосредственной причиной формирования полипов пищевода считается гастроэзофагеальный рефлюкс, приводящий к хроническому воспалению слизистой оболочки пищевода и нарушению процессов репарации, пролиферации и регенерации эпителия [5]. За последнее десятилетие частота полипов кардио-эзофагеального перехода увеличилась с 0,2 % до 6,2 %, эти новообразования сочетаются с эзофагитом и с линейной эрозией над полипом в 93 % и 63 % соответственно [107, 78]. Динамическое эндоскопическое наблюдение в течение 3-х лет за детьми с полипами пищевода и кардиоэзофагеального перехода показало, что в 43,5% случаев произошел их регресс, в 43,5% случаев размеры оставались стабильными и в 13,0% наблюдался рост полипов, что послужило поводом для эндоскопической полипэктомии [75]. Частота рецидивирования полипов кардио-эзофагеального перехода после эндоскопической полипэктомии увеличивалась до 46 %. При длительном катамнестическом наблюдении показано, что факторами, способствующими возникновению рецидивов, являются: младший школьный возраст ребёнка, наличие воспалительных изменений полипа, прогрессирование эзофагита и нарушений моторики ВОПТ, нерегулярная лекарственная терапия после проведенного оперативного удаления полипа [78].

В 2002 г. Н.В. El-Serag и соавт. [102] оценили результаты ЭГДС 402 неврологически здоровых лиц с симптомами ГЭРБ в возрасте 1,5–25 лет (средний 9,7 года). Эрозивный эзофагит был выявлен у 139 (34,6%) пациентов. У 11 (2,7%) детей на основании наличия очагов атипичной слизистой оболочки в терминальном отделе пищевода был заподозрен пищевод Баррета. При дальнейшем гистологическом

исследовании биоптатов во всех 11 случаях выявлены признаки желудочной метаплазии, признаков кишечной метаплазии не обнаружено [102].

С целью определения распространенности эрозивного эзофагита среди детей М.А. Gilger и соавт. в 2008г. [108] было проведено более масштабное исследование [108]. В работе использовались данные ЭГДС 7188 детей и подростков в возрасте до 17 лет (средний $12,7 \pm 4,9$ года). У 12,4% из них был выявлен эрозивный эзофагит. Оценивалась частота заболевания в различных возрастных группах (рис. 2.). Среди детей до 1 года эрозивный эзофагит был обнаружен в 5,5% случаев (29/531). С возрастом его частота увеличивалась и к 17 годам составила 19,6% (106/542). У 7,7% детей с эрозивным эзофагитом достоверно чаще, чем без него (2,5%), выявлялась грыжа пищеводного отверстия диафрагмы. Таким образом, было показано, что с возрастом вероятность развития эрозивных эзофагитов увеличивается; наличие грыжи пищеводного отверстия диафрагмы является фактором риска появления эрозий в пищеводе.

Изучению частоты и распространенности неэрозивной и эрозивной ГЭРБ у детей по данным ЭГДС посвящен ряд исследований и в России. По данным Л.А. Семенюк [62], среди детей и подростков от 6 до 18 лет с патологией органов пищеварения у трети выявлена эндоскопически позитивная форма ГЭРБ, которая в 24,8% наблюдений проявляется в форме катарального и в 5,6% – эрозивно-язвенного рефлюкс-эзофагита. С годами удельный вес хронических эзофагитов при гастроэнтерологической патологии растет: с 7,5% в 6–7-летнем возрасте до 35,7% в 16–18-летнем. Параллельно с этим установлено утяжеление течения патологии: с 11 лет увеличивается выявляемость эрозивно-язвенного рефлюкс-эзофагита .

В исследовании Н.В. Лярской [39;42] были оценены результаты 9472 ЭГДС детей в возрасте до 15 лет (преобладающий возраст от 12 до 15 лет) за период с 2002 по 2006 г. Был показан рост общего числа больных с рефлюкс-эзофагитами за исследуемый период: 2002 г. – 9%, 2003 г. – 11%, 2004 г. – 14%, 2005 г. – 22%, 2006 г. – 23%. За 5 лет увеличился также удельный вес числа детей с рефлюкс-эзофагитами в возрасте от 0 до 7 лет – с 9 до 14,7%.

Большинство исследователей отмечают, что клиническая картина ГЭРБ в разном возрасте отличается. По мере взросления симптомы болезни у детей становятся все более похожими на таковые у взрослых [25], для которых наиболее характерными жалобами при ГЭРБ считаются изжога и кислая отрыжка [29]. В работе

S.P. Nelson [141;142] исследовалась частота симптомов, ассоциированных с ГЭР, у детей и подростков в возрасте от 3 до 17 лет. В первые две группы вошли родители обследуемых в возрасте 3–9 лет и 10–17 лет, а третью группу составили сами пациенты 10–17 лет. Оказалось, что дети младшего возраста наиболее часто жаловались на боль в животе (7,2%), реже – на регургитацию и изжогу (2,3 и 1,8% соответственно). Старшие дети со слов родителей наиболее часто отмечали изжогу (3,5%), реже – боль в животе и регургитацию (3 и 1,4%). В возрастной группе 10–17 лет по оценке самих обследованных частота тех же жалоб была значительно выше: изжога – 5,2%, абдоминальная боль – 5%, кислая отрыжка и регургитация – 8,2%.

S.K. Gupta и соавт. [112] определяли взаимосвязь жалоб и тяжести эзофагита у детей разных возрастов. Дети с характерными для ГЭРБ симптомами была разделены на две группы: 45 – с эрозивным эзофагитом и 45 – с эндоскопически негативной формой. Наиболее частыми жалобами были регургитация/рвота, абдоминальная боль и кашель. У детей 1–5 лет с эрозивным эзофагитом в сравнении со старшими детьми кашель, отставание в физическом развитии, регургитация/рвота встречались чаще, протекали тяжелее, а изжога наблюдалась редко.

Определению распространенности симптомов ГЭРБ среди подростков 14–18 лет было посвящено исследование T.S. Gunasekaran и соавт. [111]. Из числа опрошенных (1286) 56% отметили наличие у них хотя бы одного эзофагеального или респираторного симптома ГЭРБ. Частота пищеводных жалоб составила: изжоги – 22%, регургитации – 21%, дисфагии – 15%. Среди респираторных симптомов наблюдались одышка (24%), затрудненное дыхание (20%) и кашель (18%). У подростков с эзофагеальными симптомами чаще, чем у обследованных только с респираторными жалобами, выявлялись и респираторные нарушения (52% против 25%)[10].

ГЭРБ может протекать с периодами обострения и ремиссии. Симптомы ГЭРБ у детей могут обостряться на фоне присоединения интеркуррентных заболеваний, например простудных или других инфекций. Факторами, приводящими к обострению ГЭРБ, являются также стресс, погрешности в диете, физические нагрузки, связанные с напряжением мышц передней брюшной стенки и переворотами туловища. По данным 48-часовой рН-метрии была определена значительная вариабельность характера и частоты рефлюксов даже в течение 2 сут подряд. L. Mahajan и соавт. [134] показали, что 8 из 26 обследованных до 17 лет имели противоречивые (норма и

патология) результаты в 1-е и 2-е сутки рН-мониторинга: у 5 были нормальные показатели в 1-е и патологические во 2-е сутки исследования, а у 3 – наоборот.

Таким образом, ГЭРБ у детей характеризуется высокой частотой по сравнению с другими функциональными расстройствами. Распространенность ее увеличивается с возрастом. Родители не всегда способны адекватно оценить жалобы своего ребенка, особенно такие субъективные, как изжога. К тому же, сами дети часто не могут точно объяснить свои ощущения. Кроме того, большинство авторов отмечают, что клинические проявления ГЭРБ у детей отличаются от таковых у взрослых и разнятся в различном возрасте. Основной жалобой у детей младшего возраста является боль в животе, в то время как изжога при ГЭРБ выходит на первый план у подростков.

Единого мнения относительно возрастной эволюции проявлений болезни начиная с первого года жизни нет. Данные о прогностической значимости патологической регургитации у младенцев и ее влиянии на формирование ГЭРБ у этих детей в старшем возрасте противоречивы и требуют дополнительных исследований.

Сведения о частоте эзофагитов по результатам ЭГДС также различаются. Распространенность эрозивных форм колеблется от 12 до 36% [2, 3, 9]. Для многих исследований выборка пациентов представлена больными гастроэнтерологического профиля, тем самым часть детей с бессимптомным течением рефлюкс-эзофагита не учитывается.

Неоднозначны и результаты рН-метрии в пищеводе. Данные могут различаться в течение двух последовательных суток рН-мониторинга. Кроме того, многими исследователями подтверждается отсутствие взаимосвязи выраженности клинических, эндоскопических и рН-метрических изменений.

Все вышеперечисленное свидетельствует об отсутствии четких диагностических критериев ГЭРБ у детей и соответственно вызывает необходимость широкомасштабных исследований.

Для более объективной оценки распространенности ГЭРБ у детей требуется разработка четких единых критериев диагностики с учетом различных вариантов течения заболевания в разных возрастных группах.

Наиболее опасным осложнением хронического течения рефлюкс-эзофагита считается пищевод Баррета, который формируется у 0,4-2% населения. По данным разных авторов, синдром Баррета встречается у 8-20% больных рефлюкс-эзофагитом,

при этом в 30-40 раз повышается риск развития рака пищевода [65, 85]. По другим данным, из 700 биопсий, выполненным по результатам более 6 тыс проведенных ФГДС у детей, морфологические признаки пищевода Баррета были обнаружены у 1% [12]. Риск развития аденокарциномы пищевода в 4 раза выше у людей, перенесших в детстве пептический эзофагит [77].

В патогенезе формирования ГЭР ключевую роль отводят нарушениям моторики верхнего и нижнего отделов пищеварительного тракта. У детей с рефлюкс-эзофагитом по сравнению с группой детей, страдавших хроническим гастродуоденитом, чаще выявлялась недостаточность нижнего пищеводного сфинктера (31,4% и 7,7% соответственно, $p < 0,05$), гастро-эзофагеальные рефлюксы (70,9% и 17,8%, $p < 0,05$) и дуоденогастральные рефлюксы (55,5% и 32,3%, $p < 0,05$) [75]. Среди детей с хроническим запором поражения пищевода и кардио-эзофагеального перехода обнаруживались в 45%, зависели от характера патологии толстой кишки и степени выраженности задержки стула, дуодено-гастральный рефлюкс диагностировался в 77,2%, сопутствовал воспалительным изменениям ВОПТ, способствует развитию щелочного и смешанного ГЭР [97].

Как это ни парадоксально, но развитию ГЭР может способствовать проведение эрадикационной терапии. При успешной эрадикации пропадает ощелачивающий эффект аммония, получаемого из мочевины с помощью уреазы *H. pylori* [163], соответственно, возрастает секреция соляной кислоты и накапливается кислое содержимое в желудке, что в сочетании со снижением перистальтической активности желудка, поддерживавшейся *H. pylori*, создает предпосылки для развития ГЭР. После эрадикации также снижается уровень сывороточного гастрина, который повышает тонус нижнего пищеводного сфинктера [14]. У взрослых мужчин развитие ГЭР после эрадикации происходит преимущественно при наличии выраженного фундального гастрита и нарастания веса, обуславливающего моторно-эвакуаторные нарушения, характерные для людей с избыточным весом [134]. После эрадикационной терапии язвенной болезни ДПК признаки ГЭРБ через 12 мес выявлялись с частотой 19%, через 24 мес. у 28%, через 36 мес. у 37% и через 48 мес. у 44% больных [136].

Функциональные нарушения моторики ВОПТ (гастроэзофагеальные, дуоденогастральные, дуоденогастро-эзофагеальные рефлюксы) выявлялись у 57,1% детей с ЯБДК, как в стадии обострения, так и в стадии ремиссии [96, 23]. Было показано, что у детей хронические воспалительные заболевания ВОПТ,

ассоциированные с *H. pylori*, в 70% случаев сопровождаются моторно-эвакуаторными нарушениями гастродуоденальной зоны, а проведение эрадикационной терапии приводит к увеличению частоты и выраженности моторных дисфункций [14]. Отмечено, что по мере увеличения времени, прошедшего с момента эрадикации, частота возникновения сопутствующей ГЭРБ у детей с дуоденальными язвами неуклонно возрастает [55].

Хорошо известно, что *H. pylori* способен стимулировать кислотную продукцию в желудке, которая в сочетании с моторными нарушениями пищевода становится одним из решающих факторов в развитии рефлюкс-эзофагита [76]. С другой стороны, повышенная интрагастральная кислотность, независимо от Нр-статуса, является одним из доминантных факторов в патогенезе ГЭРБ у пациентов с язвенной болезнью, что требует адекватной антисекреторной терапии у данной категории больных [45;34].

В оригинальном исследовании Вишневой Е.А., 2008 была проведена оценка соответствия стандартам и рекомендациям, основанным на базе доказательной медицины, которые используются при терапии патологии ВОПТ у детей и подростков (методом анкетирования педиатров гастроэнтерологов). Несоответствие стандартам при ГЭРБ составило 55%, при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки - 25% [17]. Только 40,8% детей с впервые выявленной в эндоскопическом центре ЯБ находились на стационарном обследовании и лечении, у 19.5% больных с ранее не диагностированным или не леченным в амбулаторных условиях язвенным процессом эндоскопически выявлена деформация луковицы ДПК,

У половины детей отсутствовал контроль за результатами эрадикационной терапии, обнаруживалась низкая выявляемость семейного носительства Нр-инфекции и отсутствие системного подхода к ее эрадикации [96, 22]. Неполное назначение лекарственных средств при ГЭРБ выявлялось в 30-43% (антациды и прокинетики, соответственно), антибиотики в эрадикационной терапии ЯБ и хронического гастрита применялись лишь в 45,5% случаев. Комплекс терапии, проводимой подросткам при ЯБ желудка и двенадцатиперстной кишки, не включал консультативную помощь физиотерапевта и психоневролога. Также обнаружено частое назначение при заболеваниях ВОПТ у детей препаратов с недоказанной эффективностью. При ГЭРБ витамины применялись в 43,9%, пробиотики - в 21,7%. При ЯБ желудка и двенадцатиперстной кишки витамины назначались в 94,8%; ферменты - в 64,7%,

гепатопротекторы - в 17,2%. В терапии хронического гастрита ферменты использовались в 69,0%, гепатопротекторы - в 14,9% [17]. Выявленные факты вносят существенный вклад в хронизацию течения патологии ВОПТ, поскольку такие назначения приводят к очевидному снижению комплаентности из-за удорожания курса лечения и полипрагмазии.

Установлена четкая взаимосвязь между частотой патологических состояний ВОПТ и периодами физиологического вытяжения: 6-7 лет, 9-10 лет и 12-14 лет [95]. По данным других исследователей, критическим периодом для возникновения поражений пищевода, является возраст от 12 до 15 лет. Именно в пубертатном периоде происходят интенсивные изменения в строении тела и внутренних органов, отмечается качественная перестройка нейроэндокринной регуляции, что значительно изменяет морфологические и физиологические соотношения отдельных органов и систем. Возникает дезинтеграция роста и созревания, приводящая к нарушению моторики желудочно-кишечного тракта и нижнего пищеводного сфинктера в частности [75]. Косвенным доказательством влияния физического развития, а именно периодов роста детей школьного возраста с рефлюкс-эзофагитом, гастродуоденитом и нарушениями моторики ВОПТ (ГЭР, ДГР), было обнаружение нестабильности шейного отдела позвоночника у 63% детей, наиболее часто встречающейся при обоих видах рефлюксов - 70% [27]. Бурный рост ребенка, диспропорции отдельных органов и систем организма отражаются в появлении симптомов недостаточности физиологических сфинктеров и дискинезии ВОПТ, в частности появлении ГЭР (тошнота, изжога, отрыжка воздухом и кислым, рвота пищей). В данной клинической ситуации целесообразно оценить физическое развитие ребенка, скорость прибавки роста и массы тела за период времени, предшествующий появлению жалоб.

Морфологическое исследование традиционно входит в перечень диагностических мероприятий при ГЭРБ у детей, однако показания к его проведению и его использование в практической работе ограничены.

Согласно последним рекомендациям по диагностике и лечению ГЭРБ у детей прицельная биопсия слизистой пищевода у детей с последующим гистологическим изучением материала проводится по следующим показаниям:

- 1) расхождение между рентгенологическими и эндоскопическими данными в неясных случаях,

- 2) при атипичном течении эрозивно-язвенного эзофагита,

3) при подозрении на метапластический процесс в пищеводе (барреттовская трансформация),

4) папилломатоз пищевода,

5) подозрение на малигнизацию опухоли пищевода.

В других случаях необходимость биопсии определяется индивидуально.

Стандартные требования к биоптату включают в себя следующее: материал должен содержать эпителий, собственную пластинку и мышечную пластинку слизистой оболочки (СО) и быть ориентирован перпендикулярно для возможности правильной оценки толщины базального слоя, разрастания сосудов и удлинение стромальных сосочков. Для дифференциального диагноза предпочтительно наличие 2 или 3 этих признаков, что нельзя выявить при неправильно ориентированной биопсии. У взрослых невозможность использования четко определяющихся гистологических критериев приводит к 50% чувствительности в диагностике эзофагита [115]. Исследователи обращают внимание на большую вероятность неравномерного повреждения СО пищевода, что не позволяет диагностировать изменения при гистологическом исследовании. Эзофагит может выявляться только при морфологическом исследовании, в то время как слизистая эндоскопически не изменена [165].

Морфологические изменения при рефлюксе обычно представлены расширенными межклеточными пространствами, утолщением базального слоя за счет быстрой регенерации и "сосудистыми озерами". Последние представляют собой расширенные капилляры из-за длительного воздействия кислоты на слизистую оболочку, эндоскопически описываются как красные полосы и расцениваются как самые ранние эндоскопические признаки рефлюксной болезни. Преимущественно наблюдаются в зоне продолжения дорзальной складки желудка, и при сохраняющемся воздействии кислоты там же появляются первые эрозии [88].

Гистологическими критериями минимально выраженного эзофагита считаются удлинение сосочков и гиперплазия базальной зоны. Умеренный эзофагит диагностируется при наличии врастания сосудов в сосочки и наличие 1-15 эозинофилов и /или нейтрофилов в большинстве полей зрения. Тяжелый эзофагит диагностируется при наличии эрозивных и язвенных поражений [165].

Расширение межэпителиальных контактов является маркером повреждения эпителия пищевода. Агрессивный рефлюкс повреждает межклеточные

соединительные структуры, что ведет к расширению межклеточных пространств. Кислоточувствительная ноцицептивная модель рефлюкса рассматривает изжогу как болевой ответ на хемотримуляцию интраэпителиальных нервных окончаний, расположенных внутри или непосредственно сразу под многослойным плоским эпителием пищевода. Повреждающий кислый рефлюктат достигает и стимулирует эти нервные окончания как следствие повышенной проницаемости эзофагеального эпителия, которая в свою очередь, появляется в результате кислого повреждения пепсином кислотой эпителия. Эти процессы отражаются в расширении межэпителиальных пространств (МЭП) [170, 158]. Расширение МЭП встречается и в дистальном и в проксимальном отделах пищевода, является длительно сохраняющимся признаком, чувствительным маркером неэрозивной ГЭРБ [122, 125]. Установлено 4 класса МЭП в зависимости от их размера. Показано наличие значительной и независимой связи размеров МЭП с клиническими симптомами эзофагита, данными гистологического и морфометрического исследования [150]. По данным трансмиссионной электронной микроскопии 3-х месячный курс антисекреторной терапии ГЭРБ приводит к уменьшению размеров МЭП в 90%. Более длительный курс терапии значительно увеличивал пролиферацию эпителиальных клеток СО пищевода в группе пациентов с эрозивным эзофагитом [121]. Наиболее чувствительным, но слабо специфичным гистологическим маркером рефлюкса считаются реактивные изменения со стороны эпителия, характеризующиеся увеличением базального клеточного слоя больше чем на 15% толщины эпителиального слоя или удлинение сосочков до верхней трети эпителиального слоя. Эти изменения отражают увеличение слущивания многослойного эпителия СО пищевода. Длина сосочков нарастает из-за гибели клеток поверхностного слоя вследствие воздействия кислотного рефлюкса, в то время как базальноклеточная гиперплазия отражает репаративные процессы. Такие изменения отмечаются почти в 50% биопсий пищевода, взятых у здоровых людей на уровне 2-3 см выше Z линии [123]. Характерные для рефлюкса гистологические изменения могут наблюдаться даже в том случае, когда при проведении эндоскопии СО выглядит неповрежденной [149].

Повреждение сосудистого русла пищевода кислым рефлюксом высвобождает вазоактивные субстанции, которые способствуют развитию отека и миграции нейтрофилов и эозинофилов в зону воспаления. Для острого эзофагита нейтрофилы

(ПЯЛ) являются специфичным, но нечувствительным маркером, выявленным только у 15-40% больных рефлюкс-эзофагитом [135]. Сочетание нейтрофилов, эозинофилов и баллонных клеток в утолщенной СО с удлиненными сосочками в биопсиях детей, страдающих рефлюкс-эзофагитом, расценивается как специфический маркер заболевания [123, 183]. Эозинофилы находят в биопсиях значительно чаще (в 19 - 63% случаев), но они мало специфичны, присутствуют почти у 33% здоровых взрослых. [145].

У детей чувствительность и специфичность выявления эозинофилов в биоптате СО пищевода значительно выше, поскольку в неспецифической воспалительной реакции эозинофилы в детском возрасте не участвуют. Эозинофилия СО пищевода описана как при эзофагите, ассоциированном с аллергией к белкам коровьего молока, так и при первичном рефлюкс эзофагите. Клиническое значение эозинофилов и их роль в патогенезе повреждения СО плохо изучена и до последнего времени является предметом дискуссии. Некоторые исследователи предполагают активную роль эозинофилов в воспалительном процессе эзофагита и подтверждают это наблюдение исчезновением симптомов и эозинофилов в СО пищевода при исключении коровьего молока из диеты или при приеме оральных стероидов, в обоих случаях предполагая патоэтиологическую роль эозинофилов. Плотность эозинофилов в СО может быть важна при проведении дифференциального диагноза между аллергическим и идиопатическим эозинофильным эзофагитом [155, 123]. Было показано, что по мере взросления (с 2 до 14 лет) детей с поражениями ВОПТ нарастает число фибробластов, количество эозинофилов, при этом клеточная плотность инфильтрата и число нейтрофилов в целом не изменяются [33].

Интраэпителиальные Т лимфоциты, известные как cytokine-induced neutrophil chemoattractant или squiggle клетки, также считаются маркерами рефлюкс эзофагита [187, 151, 125]. У детей с тяжелым эзофагитом количество интраэпителиальных Т-клеток было больше по сравнению со слабо выраженным эзофагитом и без морфологических признаков эзофагита, во всех исследуемых группах отмечалось повышение количества интраэпителиальных лимфоцитов в сравнении с контрольной группой, но корреляция между количеством интраэпителиальных лимфоцитов и выраженностью воздействия кислоты на СО пищевода отсутствовала [133]. У взрослых больных с эзофагитом и /или гастритом, плотность клеточного инфильтрата

распределялась одинаково на всем протяжении ВОПТ независимо от пораженного органа, отражая диффузное воспаление [160].

Клетки Лангерганса (дендритные клетки) - антиген-презентирующие клетки иммунной системы эпителиального покрова, в пищеварительном тракте в норме присутствуют исключительно в эпителии пищевода [133] и выявляются с помощью моноклональных антител к CD1a. Индуцируют развитие контактного аллергического дерматита и реакцию отторжения кожного трансплантата [142], повышение плотности клеточного инфильтрата обнаружено у больных с ГЭРБ [171]. При проведении иммуносупрессивной терапии их количество уменьшается в эпителии десны [122], а в эксперименте - в эпителии СО пищевода мышей [37].

Обнаружение тучных клеток в СО пищевода позволяет дифференцировать ГЭР и эозинофильный эзофагит, при этом выявление тучных клеток часто совпадает с наличием эозинофилов [169]. Нейтрофильные лейкоциты также являются индикаторами степени воспаления. Определение количества эозинофилов и/или нейтрофилов в поле зрения используется для оценки тяжести эзофагита [133].

У взрослых больных обнаружено, что эрозивная форма ГЭРБ характеризуется повышением числа клеток пищевода, иммунопозитивных к NO-синтазе, эндотелину-1, мелатонину и гипоплазией кальретинин-иммунопозитивных клеток. Неэрозивная форма ГЭРБ ассоциирована с гиперплазией клеток пищевода, иммунопозитивных к синтазе оксида азота и уменьшением количественной плотности кальретинин-иммунопозитивных клеток, тогда как число эндотелин-1 и мелатонин-иммунопозитивных эпителиоцитов пищевода не отличается от контрольных значений у больных хроническим гастритом [53].

Диссоциация между наличием хеликобактерного гастрита у большинства лиц с ГЭРБ и невысокой степенью микробного обсеменения дистального отдела пищевода (16%), на фоне замены плоского эпителия промежуточным и цилиндрическим (более чем у 80% больных), указывает на первичность морфологических изменений под влиянием рефлюкса. Лейкоцитарная, плазмочитарная, лимфоцитарная и эозинофильная инфильтрация нижней части пищевода была более выражена при эрозивном, чем при катаральном эзофагите и коррелировала со степенью активности хеликобактерного гастрита. Показано, что катаральные и эрозивные изменения СО нижней части пищевода не ассоциируются, в большинстве своем, с хеликобактерной экспансией [46]. У взрослых больных с ЯБ двенадцатиперстной кишки в фазе

рецидива, сочетающейся с верифицированной ГЭРБ и клинически персистирующей изжогой в 93% и 89% выявлена слабая и умеренная инфильтрация СО нижней трети пищевода мононуклеарами и нейтрофилами [98]. У взрослых больных с ГЭРБ и ожирением недостаточность кардии и умеренно выраженный эзофагит встречались в 70%, неизменная СО пищевода обнаруживалась в 18%, при гистологическом исследовании дистрофические изменения диагностируются в 88%, эзофагит 0-I степени в 72% [11].

В 1950 г. английский ученый N. Barrett [78] впервые описал синдром, включающий грыжу пищеводного отверстия диафрагмы, пептическую язву пищевода и очаговые изменения слизистой оболочки дистального отдела пищевода. Первоначально автор считал, что обнаруженные изменения являются следствием порока развития пищевода, названного им "врожденный короткий пищевод". Но в последующем он отказался от этого предположения и принял термин "пищевод, покрытый цилиндрическим эпителием" (columnar lined esophagus), введенный P. Allison и соавт. [3, 8]. Термин "пищевод Барретта" (ПБ) был введен P. Allison и A. Jonstone в 1953 г. и до настоящего времени используется большинством зарубежных и отечественных авторов [1, 158].

Несмотря на значительный прогресс в диагностике и лечении этого заболевания, ПБ по-прежнему вызывает большой интерес у исследователей. У детей ПБ встречается значительно реже, чем у взрослых больных. В связи с этим некоторые вопросы, посвященные этиологии, патогенезу, лечению и прогнозу при ПБ у детей, окончательно не определены [57, 60, 117].

В настоящее время под ПБ принято понимать патологическое состояние, при котором происходит замещение эпителия пищевода (многослойного плоского неороговевающего) эпителием тонкокишечного и/или желудочного типа вследствие хронического воздействия повреждающих факторов при желудочно-пищеводном и щелочном рефлюксе [60, 78].

С момента первого описания понятие ПБ претерпело существенные изменения [55]. Сначала за ПБ принимали обнаруженный в дистальном отделе пищевода эпителий желудка [7, 8, 60, 104]. В последнее время многие авторы считают, что диагноз ПБ правомочен только в случае обнаружения в дистальном отделе пищевода специализированного эпителия тонкокишечного типа [78]. Термин "специализированный цилиндрический эпителий" (specialized columnar mucosa)

наиболее часто используется в англоязычной литературе для характеристики ПБ [24, 29, 39, 57, 60, 78, 104, 108].

Согласно современным представлениям:

- 1) диагноз ПБ не вызывает сомнений при обнаружении в пищеводе специализированного цилиндрического эпителия тонкокишечного типа;
- 2) кардиальный тип метаплазии, простирающийся в пищеводе более 2 см от пищеводно-желудочного перехода, рассматривается как состояние, предшествующее ПБ;
- 3) в случае обнаружения фундального типа метаплазии диагноз ПБ не ставится [24, 60, 78].

Морфологические признаки ПБ.

До настоящего времени не утратила своей актуальности классификация ПБ по А. Paull [104, 108, 149]:

- 1) фундальный тип метаплазии: в дистальном отделе пищевода определяются главные и париетальные клетки фундального отдела желудка, а кроме того, клетки, продуцирующие слизь;
- 2) переходный или кардиальный тип метаплазии: в дистальном отделе пищевода обнаруживается эпителий кардиального отдела желудка, содержащий железы пилорического отдела желудка;
- 3) специализированный цилиндрический тип метаплазии: в дистальном отделе пищевода обнаруживается эпителий, напоминающий эпителий тощей кишки, содержащий бокаловидные железистые клетки (Goblet cells).

Замечено, что существует закономерность распределения различных типов барреттовской метаплазии на протяжении дистального отдела пищевода. Так, А. Paull и соавт. [104] обнаружили, что наиболее проксимальное расположение в пищеводе занимает специализированный цилиндрический тип эпителия, дистальное расположение характерно для фундального типа, а промежуточное — для кардиального (переходного) типа.

Сочетание различных форм метаплазии эпителия на протяжении дистального отдела пищевода обнаружено у большинства пациентов [104]. Например, из 11 больных с ПБ у 1 пациента выявлено одновременное сочетание всех 3

разновидностей метаплазии эпителия, у 5 пациентов отмечалось сочетание 2 типов метаплазии и лишь 1 форма метаплазии была у 5 больных [104]. Специальные исследования показали, что не существует прямой зависимости между степенью воспалительного процесса в пищеводе и типом метаплазии [104].

У части больных специализированный цилиндрический тонкокишечный тип эпителия, кроме пищевода, обнаруживается и в желудке [24, 78]. Метаплазированный эпителий в желудке отличается от аналогичного типа метаплазии в пищеводе лишь клеточным составом [60, 78]. Так, специализированный цилиндрический тип метаплазии пищевода состоит из трех видов клеток: псевдоабсорбционных, бокаловидных и клеток, продуцирующих слизь [78]. В желудке специализированный цилиндрический тип метаплазии состоит из четырех видов клеток: к перечисленным выше добавляются еще и абсорбционные клетки тонкой кишки [11, 78].

Результаты электронной микроскопии показали, что в норме бокаловидные клетки тощей кишки отличаются от аналогичных клеток при ПБ только морфологией слизистых гранул в цитоплазме клетки [60, 78].

Псевдоабсорбционные клетки при ПБ отличаются от подобных клеток тонкой кишки лишь количеством и формой микроворсинок [60, 78]. В целом, специализированный тип цилиндрического эпителия при ПБ соответствует неполной кишечной метаплазии, так как содержит клетки, всасывающая способность которых недостаточна [60, 78].

В работе D. Skinner и соавт. приведены гистологические характеристики эпителия с относительным и высоким риском малигнизации [60, 78, 129]. Переход специализированного тонкокишечного типа метаплазии в дисплазию, а дисплазия в аденокарциному описан в работах [60, 78, 129].

ПБ по локализации метаплазированного эпителия в пищеводе может иметь мозаичное и сплошное расположение [104, 129]. Протяженность ПБ от желудочно-пищеводного перехода у детей варьирует от 2 до 14 см (в среднем 5,4 см) [11, 24, 59, 60, 104].

В настоящее время, как в гистологической, так и в клинической литературе о строении пищеварительного тракта много внимания уделяется пищеводно-желудочному переходу.

В анатомический перечень пищеводно-желудочного перехода, или комплекса (по определению Л.Л.Колесникова, Д.Б.Никитюка и Ю.М.Селина, 1997), отдельные

авторы включают наддиафрагмальный участок грудной части пищевода, пищевод в пределах пищеводного отверстия диафрагмы, брюшную часть пищевода и кардиальную часть желудка.

Наддиафрагмальный сегмент имеет длину 3-4 см; с возрастом именно в этом сегменте формируется луковичеподобная ампула, возникающая в фазе вдоха при задержке дыхания и наличии содержимого в просвете пищевода. Однако анатомически, как подчеркивают Д.И.Тамулевич и А.М.Витенас (1986) [66], указанный сегмент пищевода не существует. Именно на уровне этого отрезка пищевода чаще всего можно наблюдать эпифренальные дивертикулы, варикозно расширенные вены, терминальные рефлюкс-эзофагиты, грыжи, пептические язвы и стриктуры.

Внутридиафрагмальный отрезок располагается в пищеводном отверстии грудобрюшной преграды. Его длина обычно 1-1,5 см, ширина зависит от дыхательных движений и состояния кардии. В этом участке обычно локализуются врожденные и приобретенные грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, рефлюкс-эзофагиты, язвы, стриктуры, ахалазии, опухоли и другие органические повреждения.

Брюшной сегмент - его длина крайне вариабельна. Этот участок пищевода называют преддверием, или физиологической кардией. Вместе с диафрагмой и кардией указанный отдел органа формирует единый механизм регулятора кардии.

Слизистая оболочка в описываемом отрезке пищевода образует наряду с подслизистой основой ярко выраженные складки, способствующие смыканию кардии. Обычно они выражены на 2-3 см выше кардиальной вырезки. Их смыкание, а Ш.М.Мирганиев [14] даже пишет "сцепление", способствует формированию в дистальной части пищевода на поперечном срезе фигуры розетки ("mucosal rosette", "cardiac rosette"), являющейся, по существу, своеобразным "слизистым клапаном кардии". Когда-то этому образованию приписывали возможным "закупоривать" кардиальное отверстие, что в настоящее время разделяется далеко не всеми. Как и в области нижнего сфинктера, слизистая оболочка выстлана однослойным переходным эпителием, хорошо выражена подслизистая основа с собственными железами пищевода и в нем же расположено мощное сосудисто-нервное сплетение с лимфатическими капиллярами, что обеспечивает хорошее кровоснабжение и иннервацию замыкательному устройству для предупреждения возникновения ГЭР.

Над розеткой кардии выделяют «Z-линию», которая в указанном отделе в 23% наблюдений ровная, а в 45% - волнистая. Это зубчатая линия, представляющая собой границу перехода бледно-розового по цвету плоского эпителия пищевода в обычно ярко-красный однослойный переходный эпителий желудка; чаще всего она лежит в зоне анатомической кардии. Однако, как пишут В.Ф.Байтингер (1994) и др., *linea serrata* (Z-линия) анатомически расположена обычно несколько выше кардии. Уточнено, что весьма редко эта линия располагается в интра- или наддиафрагмальных сегментах пищевода. Это положение носит в медицине название "внутреннего короткого пищевода" (*endobrachy-esophagus*). От "короткого пищевода" отличается тем, что кардия расположена под диафрагмой и длина пищевода в пределах нормы.

Было уточнено, что в месте такого перехода эпителий пищевода как бы обрывается, формируя нередко эпителиальный сосочек, образованный слизистой оболочкой и вдающейся в нее подслизистой основой, и как бы сползающий вглубь слизистой оболочки. Исследования свидетельствуют, что зубчатая линия видна без микроскопа на 90% препаратов; более дистально этот переход располагается с правой стороны пищеводно-желудочного перехода, чем с левой. Зубчатая линия в 66% случаев (164 препарата) залегает на уровне кардиального отверстия, в 29% (72 препарата) - выше кардии до 3,4 см, а в 5% (12 препаратов) - ниже кардии на 2,3 см. По отношению к диафрагме эта линия находится в 85% случаев ниже диафрагмы, в 13% - на ее уровне и лишь в 2% - выше диафрагмы.

В гистологической номенклатуре выделяют кардиальные железы пищевода, которые для избегания двойственности рекомендованы для описания структур, связанных с кардиальной частью желудка. Тем самым признается существование кардии и дополнительно уже в разделе желудок выделяются кардиальные железы желудка и кардиальный экзокриноцит.

В литературе можно встретить термины: *esophagogastric transition* (англ.), *transition oesophagogastrique* (фр.), *Übergangszone Ösophagus-magen* (нем.) - пищеводно-желудочный переход, *esophago-gastric junction* (англ.), *la jonction oesophagogastrique* (фр.) - пищеводно-желудочное соединение.

Можно сделать вывод, что указанное соединение этих двух органов нацелено на предупреждение попадания содержимого желудка обратно в пищевод.

Среди анатомических компонентов (кардиальная складка, угол Гиса, сфинктер, венозное сплетение в подслизистой основе и т. п.), которые участвуют в

формировании этого замыкающего устройства, наиболее значимым следует признать кардиальный сфинктер. Однако данные морфологов в этом отношении весьма различны и противоречивы: одни авторы утверждают, что в области кардиальной части имеется выраженный сфинктер, другие, наоборот, отрицают наличие морфологически выраженного сжимателя.

Результаты исследования пищеводно-желудочного перехода на ранних стадиях эмбриогенеза человека позволили выявить ряд закономерно наблюдаемых стадий морфогенеза данной области: 1) стадия закладки; 2) стадия физиологической атрезии; 3) стадия реканализации; 4) стадия начала гистогенеза; 5) стадия завершения гистогенеза. Наиболее опасной при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды на организм при беременности следует считать стадию физиологической атрезии (5-6-я недели эмбриогенеза), которую можно определить как критический период в морфогенезе ПЖП. На более поздних этапах эмбриогенеза изучение пищеводно-желудочного перехода не проводилось.

Краткие итоги обзора литературы

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) является одним из наиболее распространенных заболеваний, поражающих пищевод. В последние годы большинство зарубежных и отечественных исследователей отмечают рост заболеваемости ГЭРБ и увеличение частоты выявления таких серьезных ее осложнений, как пищевод Баррета и аденокарцинома пищевода [1, 27]. Известно, что вероятность развития пищевода Баррета и аденокарциномы напрямую зависит от длительности течения рефлюкс-эзофагита, первые симптомы которого отмечаются уже в детстве. Кроме того, в наше время и у детей нередко регистрируется желудочная и даже кишечная метаплазия слизистой оболочки пищевода [12, 13]. В связи со сказанным изучение распространенности ГЭРБ в детской популяции является актуальной проблемой гастроэнтерологии, сопровождаемой рядом трудностей.

У детей ПБ встречается значительно реже, чем у взрослых больных. В связи с этим некоторые вопросы, посвященные этиологии, патогенезу, лечению и прогнозу при ПБ у детей, окончательно не определены [52, 60, 117].

Из данного обзора видно, что существующие подходы и взгляды на СО ПЖП и определения ПБ, не в состоянии отразить необходимые для клинического применения

подходы в диагностике и лечении ГЭРБ и ее осложнений. Также очевидно, что ряд существенных вопросов, касающихся обнаружения и оценки переходной зоны, покрытой цилиндрическим эпителием, остаются до настоящего времени не изученными.

Глава 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал 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.

Для выявления заболеваний ВОПТ детям проводилось комплексное гастроэнтерологическое обследование, включающее фиброгастродуоденоскопию (ФЭГДС) с обязательным биопсийным исследованием. В исследование было включено 90 детей, у которых по результатам клинико-лабораторных исследований была диагностирована ГЭРБ. Все дети были в возрасте от 7 до 16 лет (46 мальчиков и 34 девочки) и относились к младшей и старшей школьной возрастной категории. Большинство детей, включенных в исследование, были в возрасте 13-16 лет (49,5%). Дети в возрасте 10-12 лет составили 34,4%, а дети 7-9 лет – 16,1%.

Эндоскопическое исследование проводилось детскими панэндоскопами “Olympus” и “Fudjinon”. Оценка эндоскопических изменений проводилась в соответствии с Лос-Анжелеской классификацией (1994 г.). Для проведения эндоскопических и морфологических сопоставлений были доступны протоколы эндоскопического исследования и записи эндоскопических исследований в цифровом формате. Проводилось совместное обсуждение полученных морфологических результатов исследования биоптатов и эндоскопической характеристики зоны пищеводно-желудочного перехода.

Биопсия слизистой оболочки пищевода бралась в двух точках - биопсия 1 бралась на расстоянии 3 см выше Z-линии, биопсия 2 - на расстоянии 1 см выше Z-линии. Обработка биопсийного материала проводилась с учетом особенностей работы с биопсиями желудочно-кишечного тракта, полученных у детей [64].

Ограничения по количеству биоптатов были связаны с трудностью взятия биоптатов пищевода у детей. Взятие биоптатов проводилось по строгим показаниям и в соответствии с утвержденными рекомендациями.

Учитывая тот факт, что пищевод Барретта не был диагностирован в исследуемой группе детей, не было необходимости и показаний к увеличению количества биопсий согласно Сиэттлскому протоколу.

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.

При гистологическом исследовании слизистой оболочки пищевода оценивались дистрофические, регенераторные, воспалительные изменения, сосудистые нарушения и эрозивно-язвенные поражения. Дистрофические изменения оценивались по наличию расширенных межэпителиальных пространств, вакуолизации эпителия, появлению баллонных клеток и обнаружению крупных гранул кератогиалина. Оценка регенераторных изменений проводилась по наличию расширенного базального слоя, удлинения и увеличения сосочков. Воспалительные изменения оценивались по повышению содержания в эпителии уровня внутриэпителиальных лимфоцитов (ВЭЛ), появлению эозинофильных лейкоцитов (ЭЛ) в эпителиальном пласте, наличию воспалительной инфильтрации стромы и формированию в строме лимфоидных фолликулов. Выраженность указанных морфологических изменений измерялась в баллах. Проводилось сопоставление полученных морфологических данных с местом взятия биоптатов (1 или 2 точка взятия) и массой тела ребенка. Частота обнаруженных изменений оценивалась в зависимости от уровня взятия биопсии и массы тела ребенка.

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 MTB1, RTU Flex Dako) – дендритные антигенпрезентирующие клетки Лангерганса.

Подсчет клеток в биоптатах слизистой оболочки пищевода проводился по цифровым фотографиям гистологических препаратов. Фотографии были получены на микроскопе Olympus BX31, оснащенным камерой с программным обеспечением Olympus, при увеличении объектива x40.

Подсчет выполняли на экране монитора по сетке (24x18 клеток), на которую накладывалась фотография. Площадь одного поля подсчета составляла 0,14487 мм²

(длина 439 мкм, ширина 330 мкм, площадь 144870 мкм²). При размерах эпителиального пласта, занимающего 3/4, 2/3 или 1/2 площади фотографии полученное количество клеток на меньшую площадь затем перерасчитывали 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 желудка 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 (pH 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 бо-

лее 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 Axioscam 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.

Определение индекса массы тела (ИМТ) проводили с учётом возраста и пола по рекомендованным нормам ВОЗ [130]. Степень избытка массы тела оценивалась по стандартному отклонению 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 (Standard Deviation Score) (Табл. 2.1).

Таблица 2.1.1

Оценка массы тела в зависимости от SDS индекса массы тела

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

При распределении детей по массе тела основную группу составили 50 детей с поражениями пищевода и избыточной массой тела (SDS +1,03+2,72). В группу сравнения были включены 40 детей с поражениями пищевода и нормальной массой тела (SDS -0,90+0,93).

Таблица 2.1.2

Общая характеристика исследованного материала

Материал	Локализация	Количество наблюдений
180 биоптатов	пищевод на 2-3 и 0.5-1 см выше Z-линии	90 детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью
112 биоптатов	желудок и двенадцатиперстная кишка	в возрасте от 7 до 16 лет с избыточной и нормальной массой тела
35 аутопсий	пищевод и желудок	35 плодов и новорожденных в сроке от 22 недель гестации до 7 суток жизни

2.2. Методы исследования

2.2.1. Гистологическое исследование

Обработка материала осуществлялась по общепринятой методике. В большинстве случаев нам удалось организовать фиксацию биоптатов в жидкости Карнуа, которую мы предварительно подготовили и предали в эндоскопические кабинеты. Кусочки ткани для гистологического исследования фиксировали согласно протоколу в жидкости Карнуа и заливали в парафин. Срезы толщиной 4-6 мкм подвергали дальнейшей обработке в зависимости от выбранного метода исследования.

Помимо окраски препаратов гематоксилином и эозином были использованы стандартные, используемые в изучении патологии ЖКТ.

2.2.2. Гистохимические методы исследования: пикрофуксином по Ван Гизон, ШИК-реакция и окраска альциановым синим (pH 2.5).

2.2.3. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование.

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование включало в себя набор моноклональных антител (см. Таблицу 2.2).

Таблица 2.2. Характеристика использованных моноклональных антител для иммуногистохимического исследования.

Антитело	Клон	Разведение	Фирма
CD3/CD7 (Т-клетки)	LN10/LP15	RTU	Novocastra
CD1a (клетки Лангерганса)	MTB1	RTU	DAKO
CK7 (цитокератин 7)	OV-TL12/30	RTU	DAKO
MUC5AC (муцин желудочный)	45M1	1:50	Novocastra

Иммуногистохимическое исследование проводили на депарафинированных срезах толщиной 4 мкм с использованием моноклональных мышиных антител к CD1a (клетки Лангерганса) (готовый раствор, MTB1), CD3, антитела к крольчьему антигену CD3/CD7 (Т-клетки) (готовый раствор, клон LN10/LP15), антитела к мышинному моноклональному антителу CK7 (цитокератин 7) (готовый раствор, клон OV-TL 12/30), мышинному моноклональному антителу MUC5AC (муцин желудочный) (разведение 1:50; клон 45M1PG-M1).

В качестве демаскирующего приема применяли нагревание стекол со срезами в Tris буфере в водяной бане ($t=98^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин). Эндогенная пероксидаза была блокирована с помощью инкубации срезов с 3% перекисью водорода (15 мин.). Специфическое связывание выявляли с помощью вторичных кроличьих антител фирмы Labvision. Специфическое окрашивание проводили диаминобензидином (DAB, «Dako», Дания). Срезы докрашивали гематоксилином. В каждом случае применяли позитивный и негативный контроль исследования. В качестве отрицательных контролей брали образцы исследуемых срезов, которые подвергались стандартной процедуре иммуногистохимии, но без добавления первичных антител. Положительные контроли для каждого антитела выбирали в соответствии со спецификациями от фирмы производителя.

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).

При оценке достоверности выявленных различий между средними значениями выборок и достоверности выявленной корреляции рассчитывалась вероятность ошибки p . По общепринятой терминологии в аналитической статистике утверждения, имеющие вероятность ошибки $p < 0,05$, называются значимыми; утверждения с вероятностью ошибки $p < 0,01$ - очень значимыми, а утверждения с вероятностью ошибки $p < 0,001$ - максимально значимыми. Нулевая гипотеза отвергалась при значении порога доверительной вероятности $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

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

По данным эндоскопического исследования верхних отделов пищеварительно-го 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 фиброгастродуоденоскопии, и выявленных жалоб у детей послужили показанием к проведению морфологического исследования слизистой оболочки (СО) пищевода для верификации диагноза.

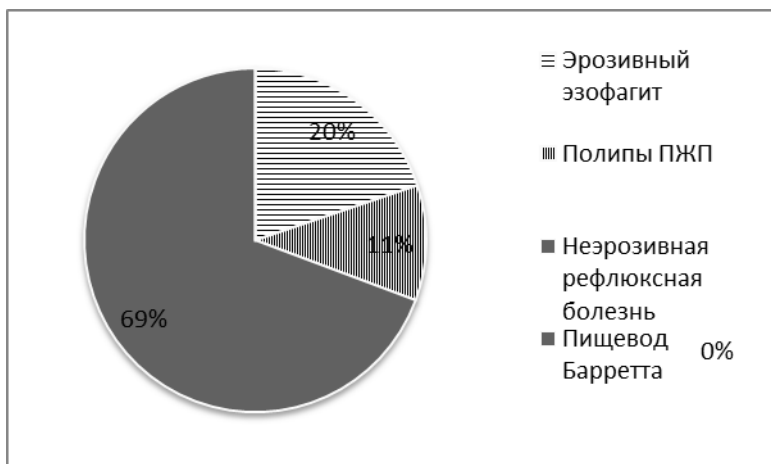


Рис. 3.1.1. Структура эндоскопического диагноза у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью

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 ре-

зультате 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 должны обнаруживаться. Повышение числа внутриэпителиальных лимфоцитов, также как и обнаружение эозинофильных лейкоцитов, рассматривались как маркеры рефлюкс-эзофагита.

При оценке морфологических изменений в биоптатах СО пищевода нами были оценены следующие морфологические критерии, которые мы разбили на группы в зависимости от того к каким общепатологическим процессам они относятся (табл. 3.1.1).

Таблица 3.1.1

Морфологические критерии, использованные при оценке поражения СО пищевода

Изменения	Морфологические признаки
Дистрофические	Расширение межэпителиальных контактов
	Вакуолизация эпителия
	Появление баллонных клеток (баллонная дистрофия)
	Крупные гранулы кератогиалина

Регенераторные	Удлинение сосочков
	Расширение базального слоя
	Увеличение количества сосочков
Воспалительные	Появление эозинофильных лейкоцитов
	Повышение уровня внутриэпителиальных лимфоцитов
	Лимфоплазмочитарная инфильтрация стромы
	Лимфоидные фолликулы
Сосудистые нарушения	Сосудистые озера
Повреждения целостности эпителиального пласта	Эрозии
	Язвенные дефекты

Проводилось сопоставление полученных морфологических данных с результатами эндоскопического исследования, местом взятия биоптатов (1 или 2 точка взятия) и массой тела ребенка. Частота обнаруженных изменений оценивалась по частоте встречаемости основных морфологических признаков и выражалась в процентах (Таблицы 3.1.1-3.1.3).

При сравнении полученных данных при эрозивной и неэрозивной формах ГЭРБ дистрофические изменения клеток - вакуолизация эпителия, вплоть до появления баллонных клеток (баллонная дистрофия) - 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 случаях находящихся на разных стадиях развития (Табл. 3.1.2).

Таблица 3.1.2

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 с приближением к нижнему пищеводному сфинктеру ($p < 0,01$), и соответственно уровням забора биопсии у детей увеличивалась с 32% до 56% и с 33% до 81% соответственно (Табл. 3.1.3).

Подобную же тенденцию мы отметили в отношении обнаружения мононуклеарной инфильтрации эпителиального пласта, которая возрастала с 32% до 56%.

Таблица 3.1.3

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

Критерий	Над Z-линией	На 2-3 см выше
Дистрофические изменения эпите- лия	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 иммуноком- петентные 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 с избыточной и нормальной массой тела полученные результаты соответствовали общей тенденции выявляемости морфологических признаков (Табл. 3.1.4). Статистически значимые отличия были выявлены в частоте выявляемости регенераторных изменений, в частности удлинение сосочков, которые было обнаружено в биоптатах, взятых на разных уровнях, а также в повышении содержания мононуклеарных клеток в эпителиальном пласте непосредственно над зубчатой Z-линией у детей с избыточной массой тела.

Таблица 3.1.4

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

Критерий	Над Z-линией		На 2-3 см выше	
	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	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

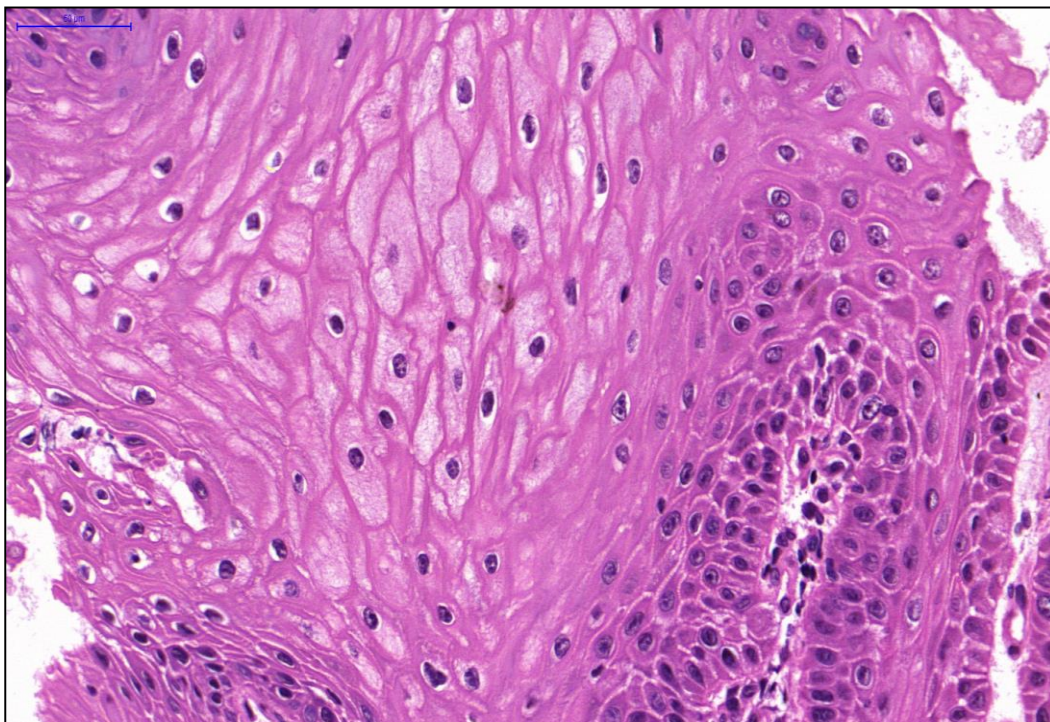


Рис. 3.1.2. Вакуолизация и баллонная дистрофия эпителия, пикноз и деформация ядер. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 400.

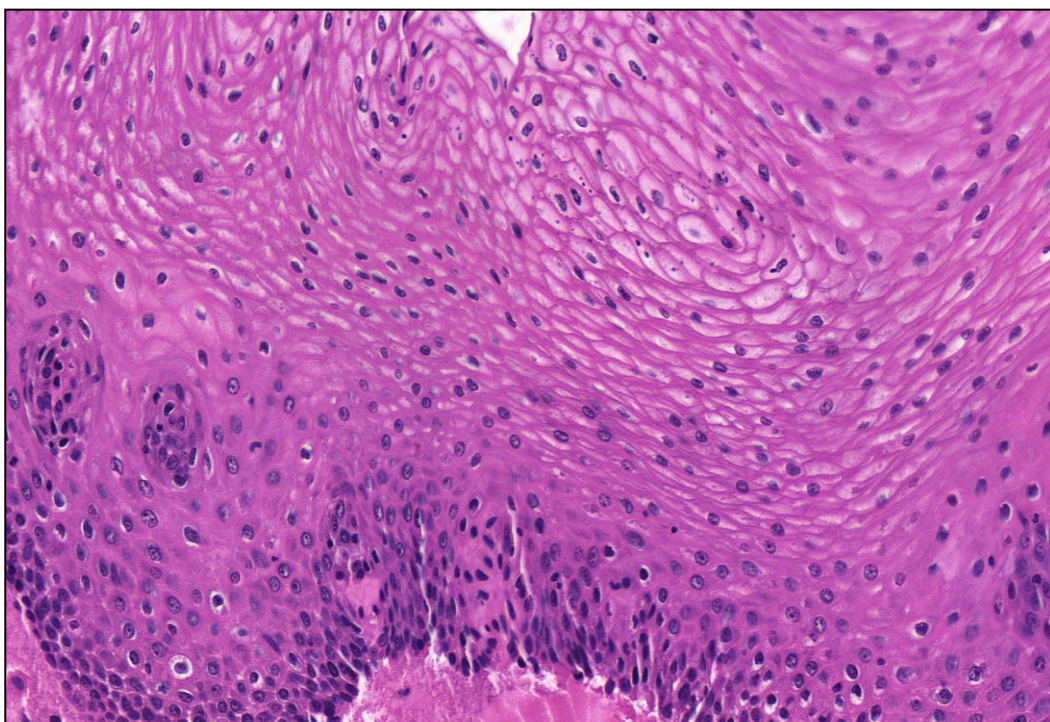


Рис. 3.1.3. Расширение базального слоя, появление мелких зерен кератогиалина в цитоплазме эпителиоцитов верхних слоев. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X 200.

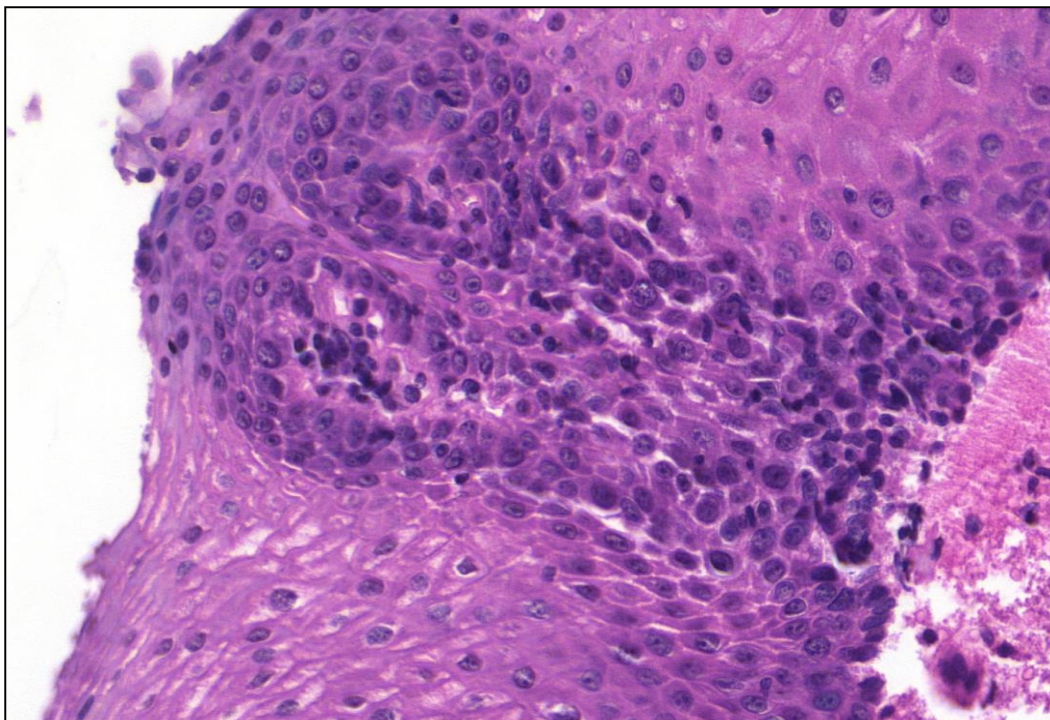


Рис. 3.1.4. Удлинение сосочков, расширение базального слоя. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X 400.

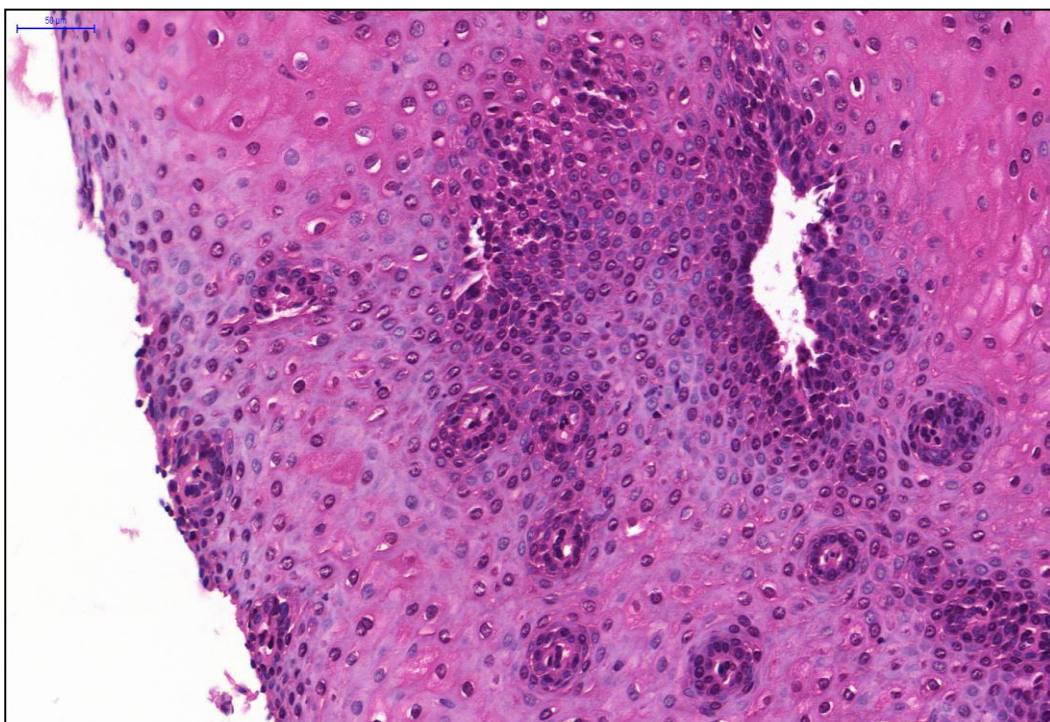


Рис. 3.1.5. Увеличение количества сосочков на тангенциальном срезе, расширение базального слоя. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x 200.

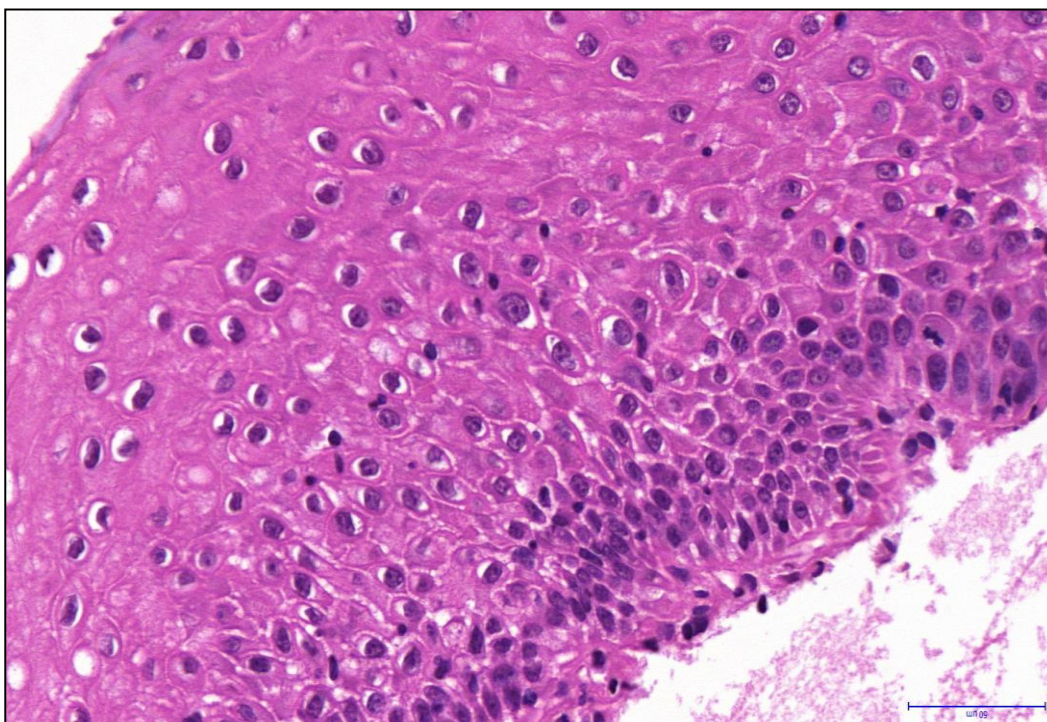


Рис. 3.1.6. Незначительное расширение межэпителиальных пространств и гиперплазия базального слоя. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X 400.

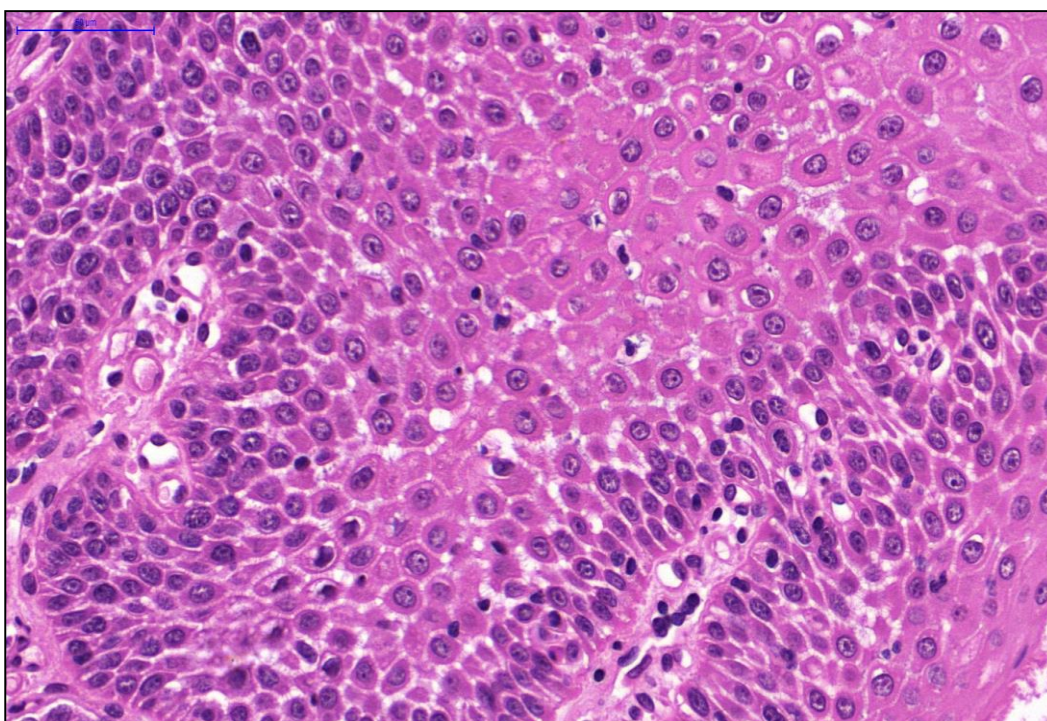


Рис. 3.1.7. Выраженное расширение межэпителиальных пространств с наличием крупных округлых пустот в сочетании с гиперплазией базального слоя и повышением содержания внутриэпителиальных лимфоцитов и лимфо-гистиоцитарной инфильтрацией стромы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x 400

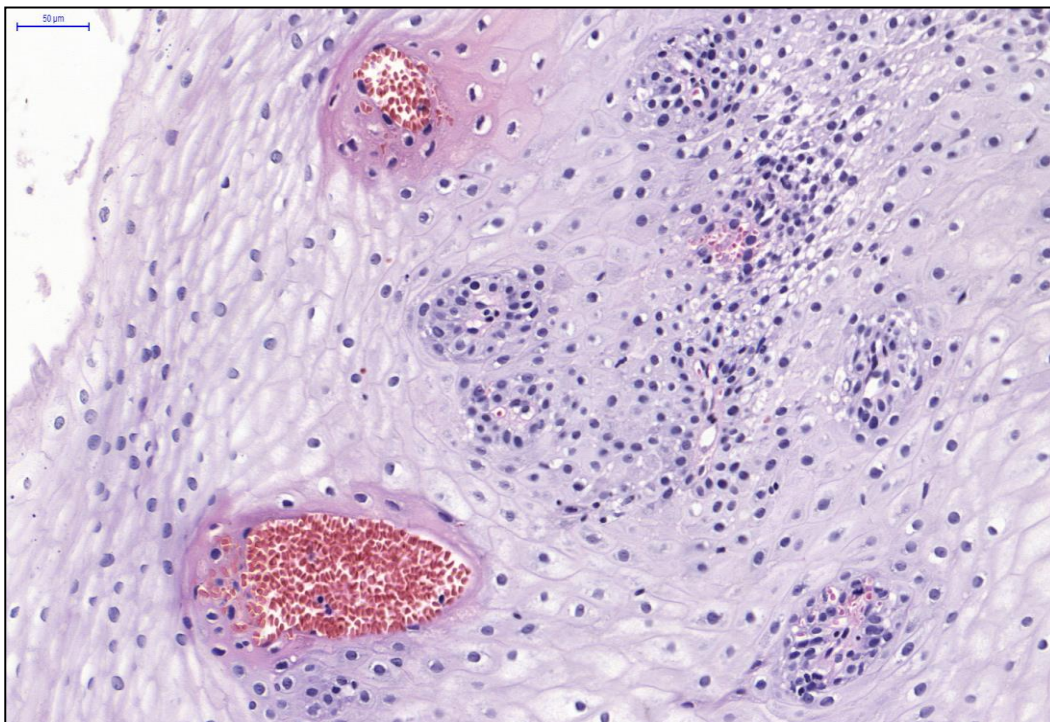


Рис. 3.1.8. Паретическое полнокровие сосудов соединительнотканых сосочков. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X 200.

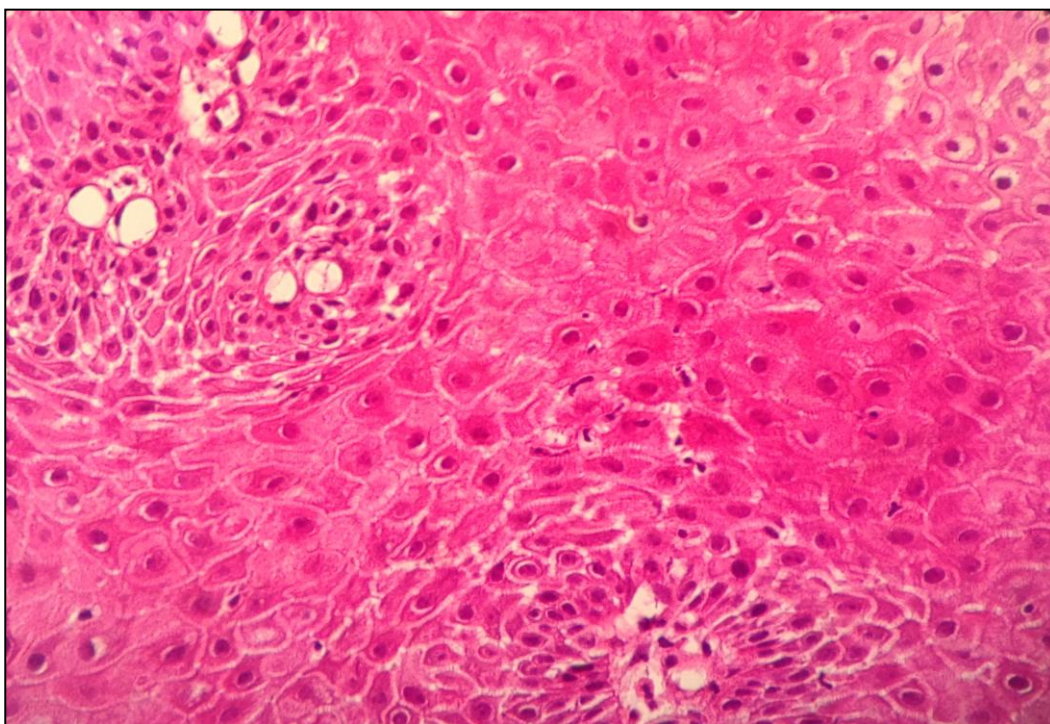


Рис. 3.1.9. Незначительное расширение межэпителиальных пространств и очаговая лейкоцитарная инфильтрация эпителия. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 400.

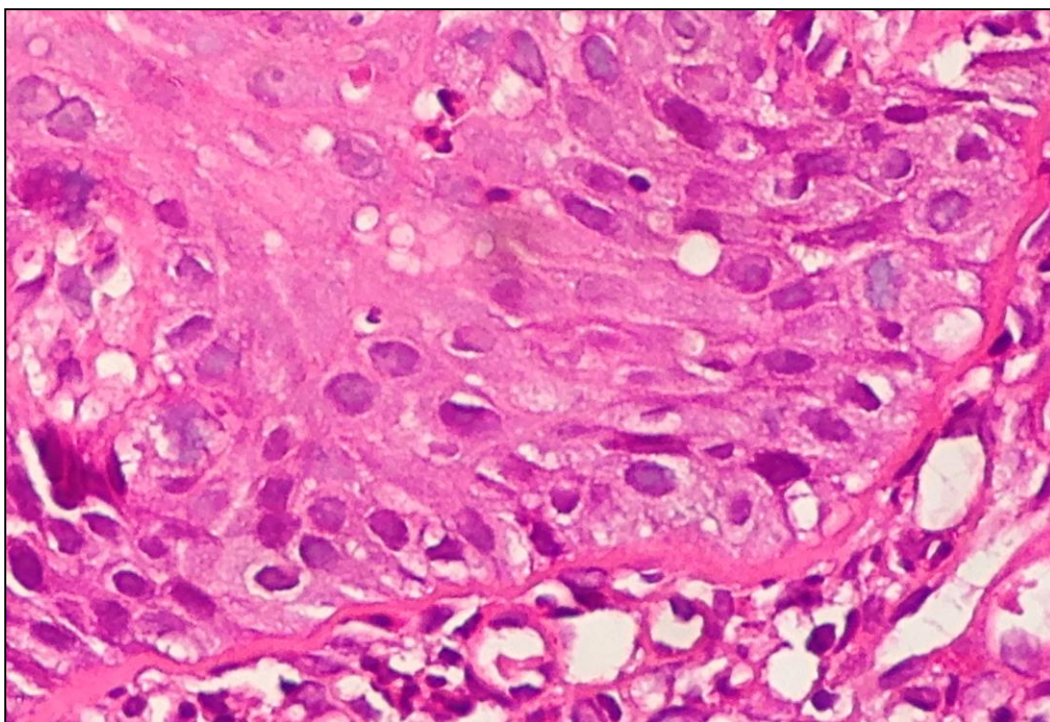


Рис. 3.1.10. Выраженные регенераторные и дистрофические изменения эпителия базального слоя и очаговое скопление эозинофилов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X 600.

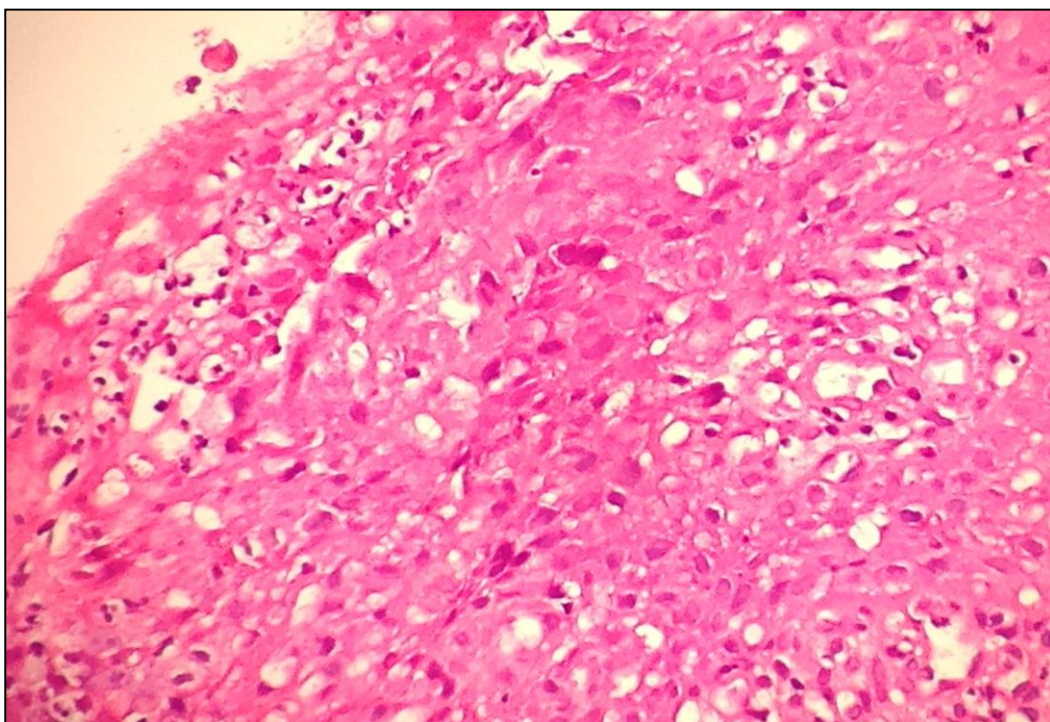


Рис. 3.1.11. Эрозия пищевода. Фибринозно-лейкоцитарный экссудат на поверхности, регенерирующий эпителий, анастомозирующие акантотические тяжи многослойного плоского эпителия. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X 400.

3.2. 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 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. 3.2.1 и 3.2.2).

Таблица 3.2.1

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	p
Уровень 1 (3 см)	N=127	176	0.004
Уровень 2 (0.5-1.0 см)	N=74	214	

Таблица 3.2.2

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	p
Уровень 1 (3 см)	N=105	41	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, количество клеток Лангерганса наоборот уменьшалось. Столь неравномерное и разнонаправленное распределение количества клеток может отражать особенности их распределения в норме, это в первую очередь касается клеток Лангерганса, а также повышенную антигенную нагрузку в дистальных отделах 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 3.2.3.

Таблица 3.2.3

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 формы ГЭРБ	Биопсия 1, N=55	239(175-290)	48 - 897	0.001
	Биопсия 2, N=33	435(262-532)	97 - 890	0.001
Неэрозивные формы ГЭРБ	Биопсия 1, N=72	138(104-179) ¹	10 - 587	0.001
	Биопсия 2, N=41	159(124-207)	55 - 421	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 (рис. 3.2.2).

Повышенное количество Т лимфоцитов свидетельствовало о повышении антигенной нагрузки и хроническом иммунном воспалении, сопутствующем полипозным образованиям и эрозиям СО пищевода у детей с избыточной и нормальной массой тела. 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 (рис. 3.2.1).

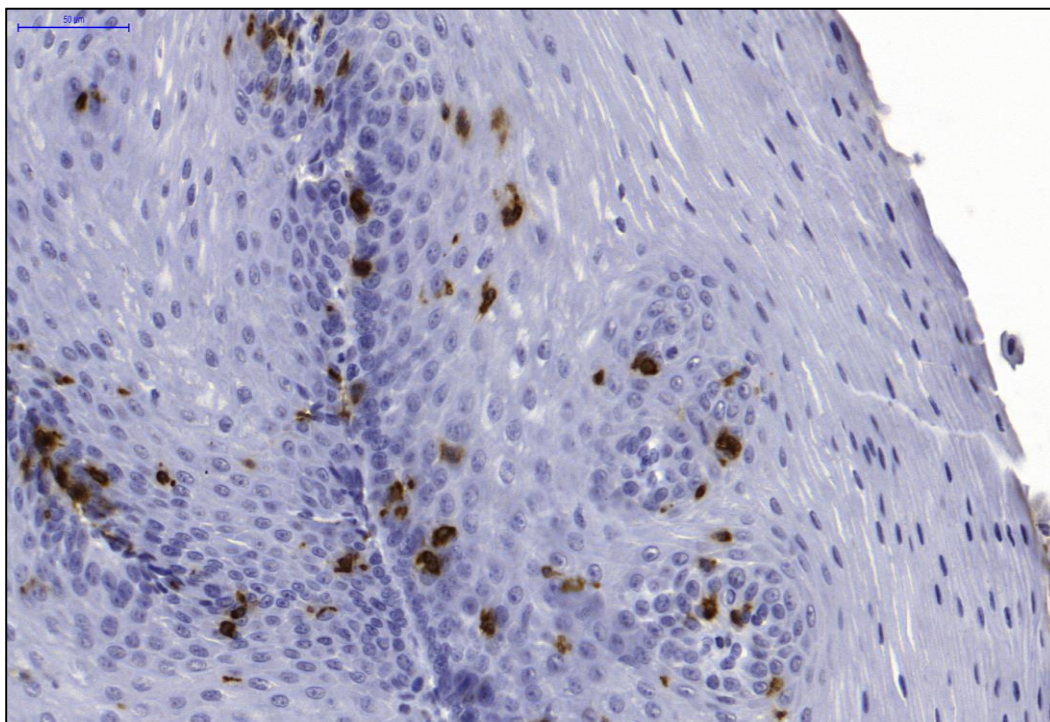


Рис. 3.2.1. Иммуногистохимическое окрашивание с моноклональным антителом CD3. Позитивное окрашивание цитоплазмы Т-клеток. Отмечается незначительное число внутриэпителиальных лимфоцитов (14 на площади 0,14 мм²). Иммунопероксидазная реакция. Ув. х 400.

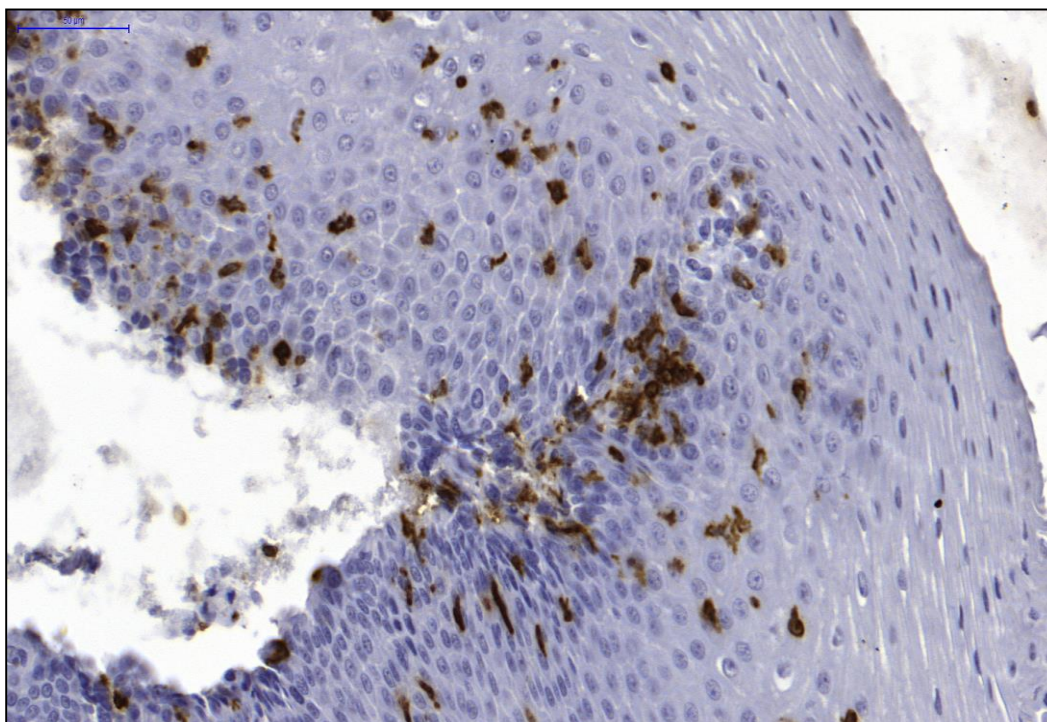


Рис 3.2.2. Иммуногистохимическое окрашивание с моноклональным антителом CD3. Позитивное окрашивание цитоплазмы Т-клеток. Отмечается значительное увеличение числа внутриэпителиальных лимфоцитов (104 на площади 0,14 мм²). Иммунопероксидазная реакция. Ув. x 400.

Состояние первичного звена неспецифического иммунного ответа было оценено по количеству антигенпрезентирующих клеток Лангерганса в многослойном плоском эпителии слизистой оболочки пищевода детей первой и второй групп (группы с эрозивными и неэрозивными формами ГЭРБ) (табл. 3.2.4).

Таблица 3.2.4

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	Биопсия 1, N=45	46(35-55)	7 - 176	0.04

формы ГЭРБ	Биопсия 2, N=22	21(14-28)	7 - 46	0.001
Неэрозивны е формы ГЭРБ	Биопсия 1, N=60	35(28-46)	7 - 152	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. 3.2.4).

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 (рис. 3.2.3 и 3.2.4).

Наши данные были сопоставимы с количеством клеток Лангерганса в слизистой оболочке пищевода взрослых здоровых пациентов, которое составляет 30 клеток на условную площадь 1 мм².

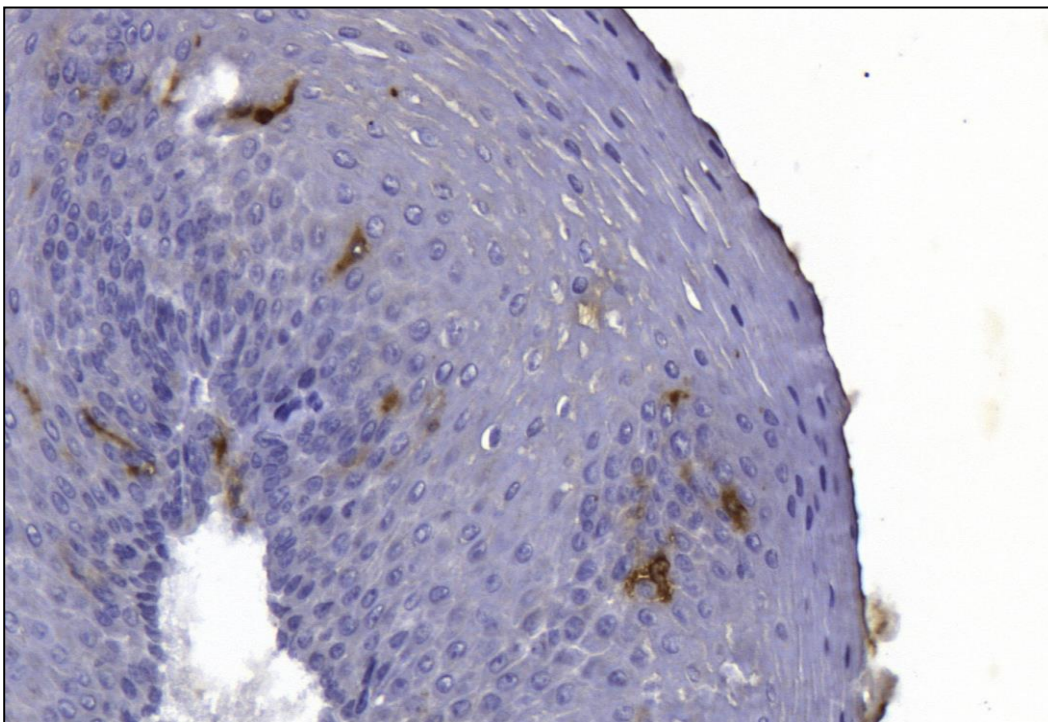


Рис. 3.2.3. Иммуногистохимическое окрашивание с моноклональным антителом CD1a. Позитивное окрашивание цитоплазмы и отростков клеток Лангерганса. В эпителии обнаруживаются клетки Лангерганса (2 на площади $0,14 \text{ мм}^2$). Иммунопероксидазная реакция. Ув. $\times 400$.

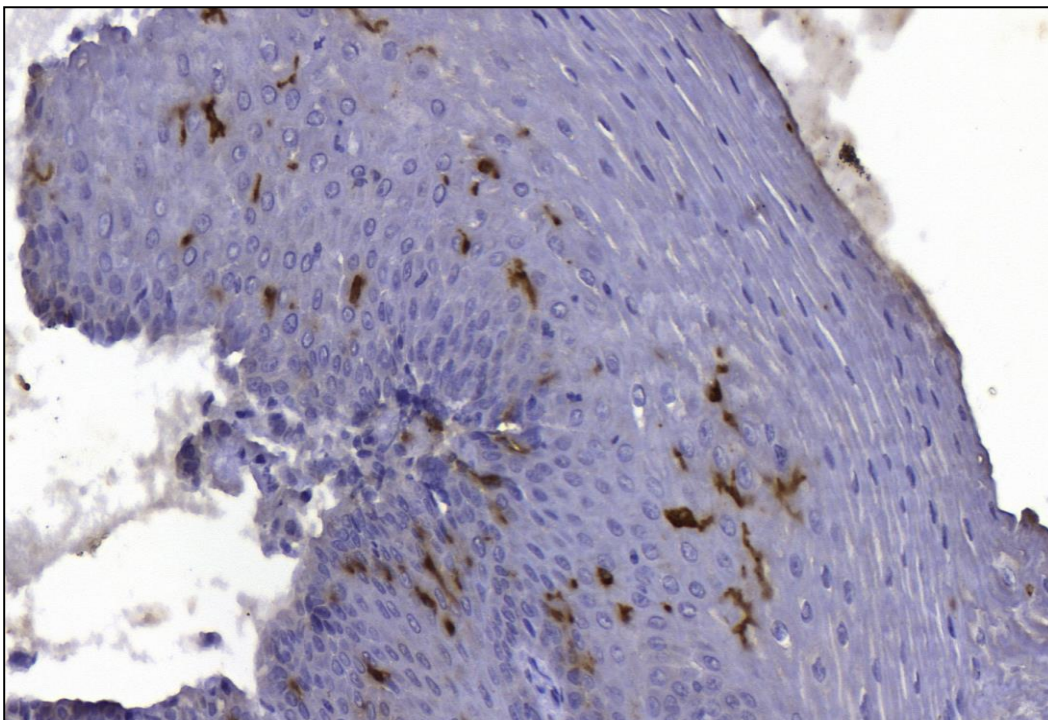


Рис. 3.2.4. Иммуногистохимическое окрашивание с моноклональным антителом CD1a. Позитивное окрашивание цитоплазмы и отростков клеток Лангерганса. В эпителии обнаруживается повышение количества клеток Лангерганса (19 на площади $0,14\text{мм}^2$) с большим количеством отростков клеток, часть из которых на срезе выглядит в виде точек (поперечный срез). Иммунопероксидазная реакция. Ув. X 400.

Проведенное иммуногистохимическое исследование биоптатов слизистой оболочки пищевода выявило следующие особенности. Воспалительные и эрозивные поражения слизистой оболочки пищевода характеризуются статистически значимым повышением количества Т лимфоцитов в эпителиальном слое дистального отдела пищевода, соответствующем месту поражения. Также непосредственно вблизи месторасположения полипа и/или эрозивного дефекта слизистой оболочки пищевода увеличивается плотность инфильтрата антигенпрезентирующих клеток.

Обращает на себя внимание, что при гистологическом исследовании повышение количества внутриэпителиальных лимфоцитов было выявлено только у 1/3 детей, имеющих воспалительные и эрозивные поражения слизистой оболочки пищевода.

При диагностике воспалительного процесса в слизистой оболочке пищевода у детей иммуногистохимическое исследование является более информативным методом, чем световая микроскопия.

Мы решили узнать насколько полученные нами данные по содержанию Т-лимфоцитов сопоставимы с данными, приведенными в работе шведских авторов, которые описали лимфоцитарный эзофагит у взрослых. После перевода данных, приведенных в статье, на значения по содержанию Т-клеток в 1 квадратном мм площади эпителия пищевода мы получили в качестве диагностической границы значение содержания Т-лимфоцитов 276 в 1мм². Под данный критерий, когда медиана содержания Т-лимфоцитов в 1мм² превышала значение 276 подходят медианы, полученные у 6 детей. Полученные у них значения по двум точкам представлены в таблице 3.2.5.

Таблица 3.2.5

Количество Т лимфоцитов в слизистой оболочке пищевода у детей с лимфоцитарным эзофагитом и у оставшихся детей в зависимости от уровня взятия биопсии (на площади 1 mm²)

Группа	Уровень биопсии, количество полей подсчета	Me	Мин-макс	p
ЛЭ	Биопсия 1, N=48	318	110 - 897	0.001
	Биопсия 2, N=26	476	104 - 890	0.001
НЛЭ	Биопсия 1, N=79	117	10 - 350	0.001
	Биопсия 2, N=45	166	55 - 421	0.001

При сравнении полученных у этих детей значений содержания клеток Лангерганса нами были получены следующие показатели.

Таблица 3.2.6

Количество клеток Лангерганса в слизистой оболочке пищевода у детей с лимфоцитарным эзофагитом и у оставшихся детей в зависимости от уровня взятия биопсии (на площади 1 mm²)

Группа	Уровень биопсии, количество полей подсчета	Me	Мин-макс	p
ЛЭ	Биопсия 1, N=26	50	7 - 176	0.04
	Биопсия 2, N=17	28	7 - 46	0.001
НЛЭ	Биопсия 1, N=69	41	7 - 152	0.04
	Биопсия 2, N=19	14**	7 - 74	0.001

Полученные у этих детей данные статистически отличаются от значений, полученных при подсчетах у оставшихся обследованных детей по двум точкам взятия биоптатов. При этом сохранялась тенденция к повышению содержания Т-лимфоцитов в дистальном направлении при одновременном снижении содержания клеток Лангерганса.

3.3. 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 варьировал в зависимости от гестационного срока. В ранние сроки гестации она была представлена только поверхностным эпителием без желез (Рис. 3.3.1).

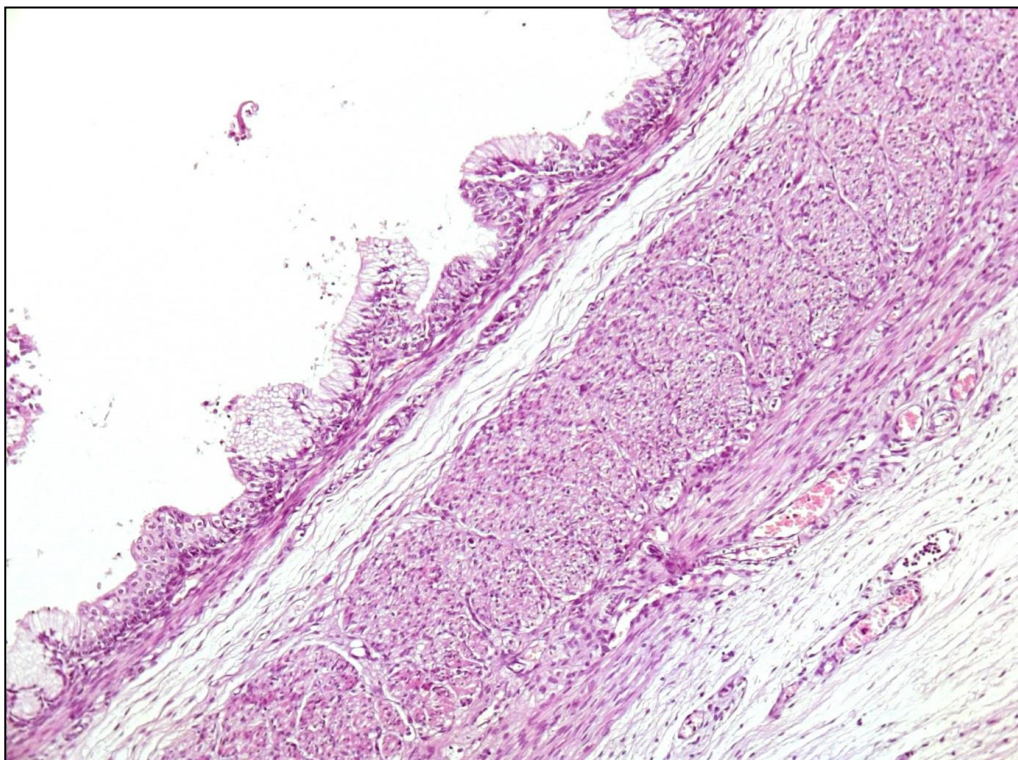


Рис. 3.3.1. Переходная зона у плода 22 недель гестации. Содержит высокие валики и не содержит желез. Окраска гематоксилином и эозином. X 100.

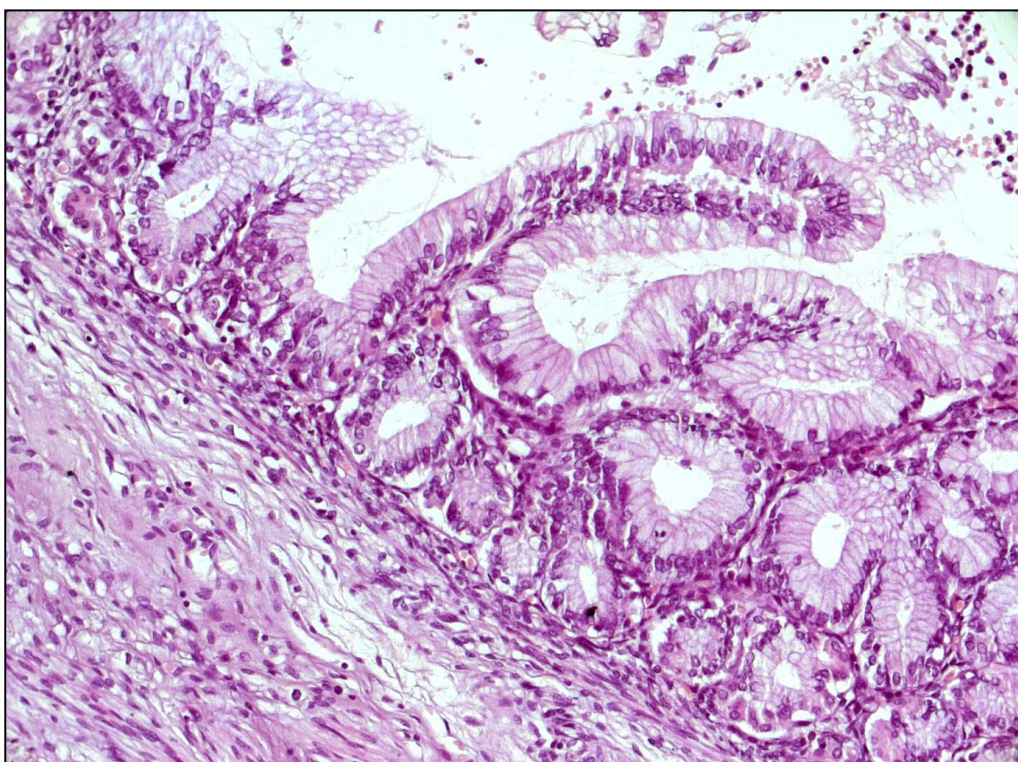


Рис. 3.3.2. Переходная зона у плода 24 недель гестации. Содержит высокие валики и слизистые железы. Окраска гематоксилином и эозином. X 400.

Сформированные слизистые железы в составе переходной зоны можно было обнаружить начиная с 24 недель гестации (Рис. 3.3.2). В последующем в переходной зоне отмечалось преобладание слизистых желез. Ни в одном из исследованных случаев не было обнаружено переходной зоны, содержащей главные железы и воспалительной инфильтрации в собственной пластинке слизистой оболочки.

Длина переходной зоны варьировала от 1021,88 μm до 2395,13 μm и в нашем исследовании ее средние значения составили $1696,64 \pm 452,1$ μm . Обращало на себя внимание наличие высоких валиков и высокий цилиндрический эпителий этой зоны (Рис. 3.3.3). В 7 случаях у плодов в сроке гестации 22-28 недель имело место наличие островком цилиндрического эпителия в поверхностных отделах многослойного плоского эпителия пищевода (Рис. 3.3.4). 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 (в среднем составив $1355, 7 \pm 973,5$ μm). Клетки островков содержали в цитоплазме кислые муцины, что подтверждалось результатами гистохимического окрашивания (Рис. 3.3.5). Островки реснитчатого эпителия на поверхности многослойного плоского эпителия были обнаружены у плодов в сроках 22-24 недели гестации (Рис. 3.3.6). 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 нам не встретилось и переходная зона всегда содержала слизистые железы.



Рис. 3.3.3. Переходная зона у плода 24 недель гестации. Содержит высокие валики и слизистые железы. Окраска гематоксилином и эозином. X 100.

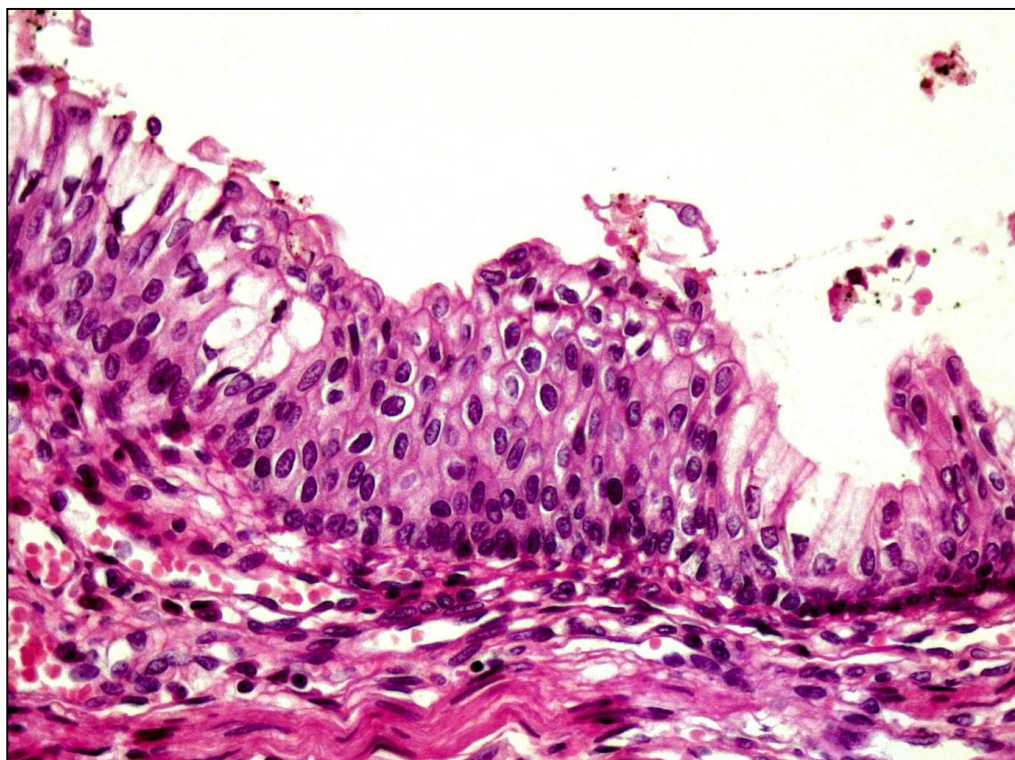


Рис. 3.3.4. Многослойный плоский эпителий у плода 23 недель гестации. В многослойном эпителии определяются островки, представленные высокими цилиндрическими клетками. Окраска гематоксилином и эозином. X 400.

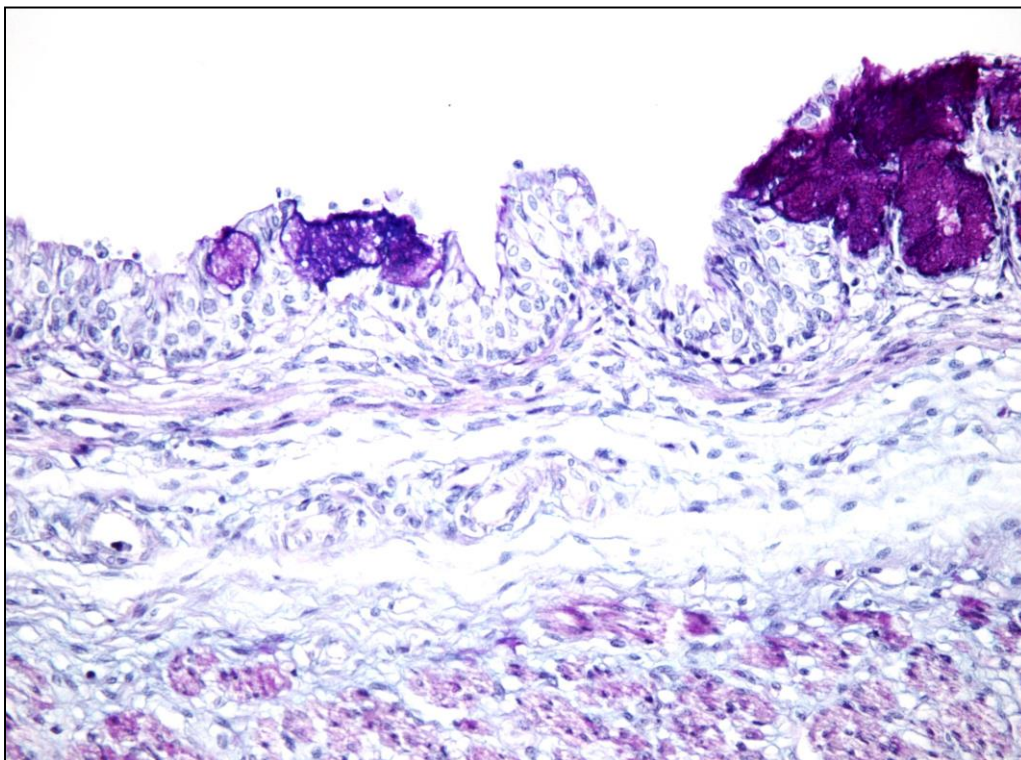


Рис. 3.3.5. Переходная зона у плода 23 недель гестации. Клетки островков цилиндрического эпителия содержат кислые муцины, обнаруживаемые по темно-синему окрашиванию. Окраска комбинированная: шик-реакция с альциановым синим (pH2.5). Ув.х 400.

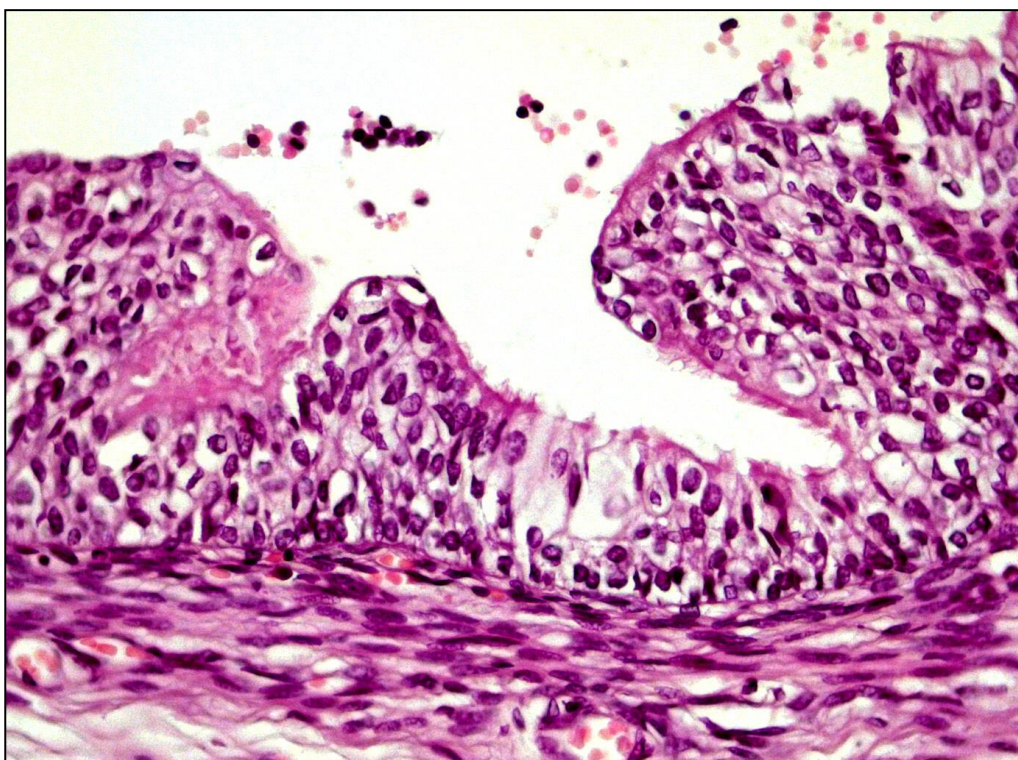


Рис. 3.3.6. Многослойный плоский эпителий у плода 22 недель гестации. В поверхностных слоях обнаруживаются очаги, покрытые реснитчатыми клетками. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.х 400.

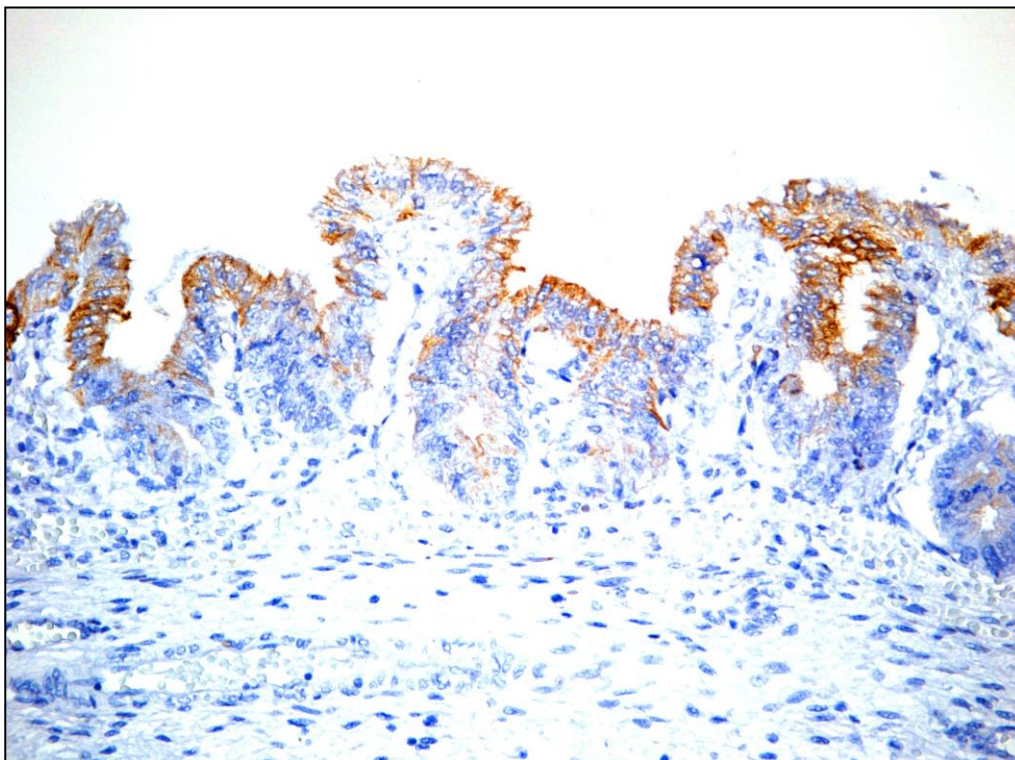


Рис. 3.3.7. Переходная зона у плода 24 недель гестации. Позитивное окрашивание покровно-ямочного эпителия в реакции с СК7. Иммунопероксидазная реакция. Ув. X 400.

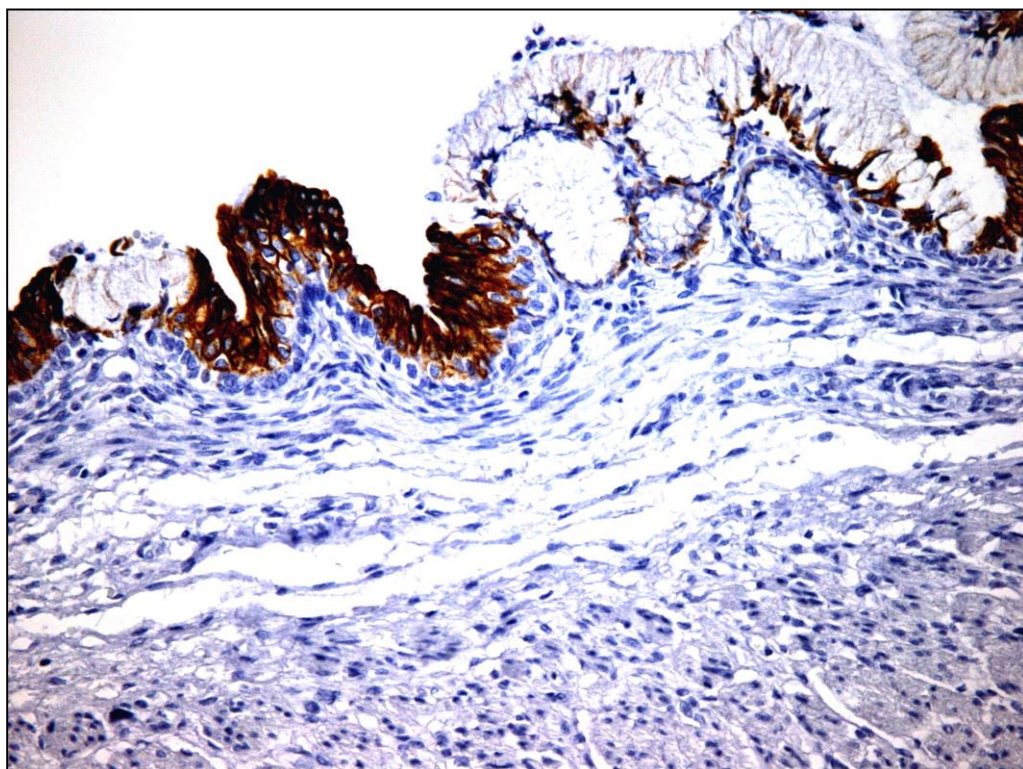


Рис. 3.3.8. Переходная зона у плода 24 недель гестации. Позитивное окрашивание клеток многослойного плоского эпителия в реакции с СК7 и островки цилиндрических клеток со слабым цитоплазматическим окрашиванием. Иммунопериоксидазная реакция. Ув. х 400.

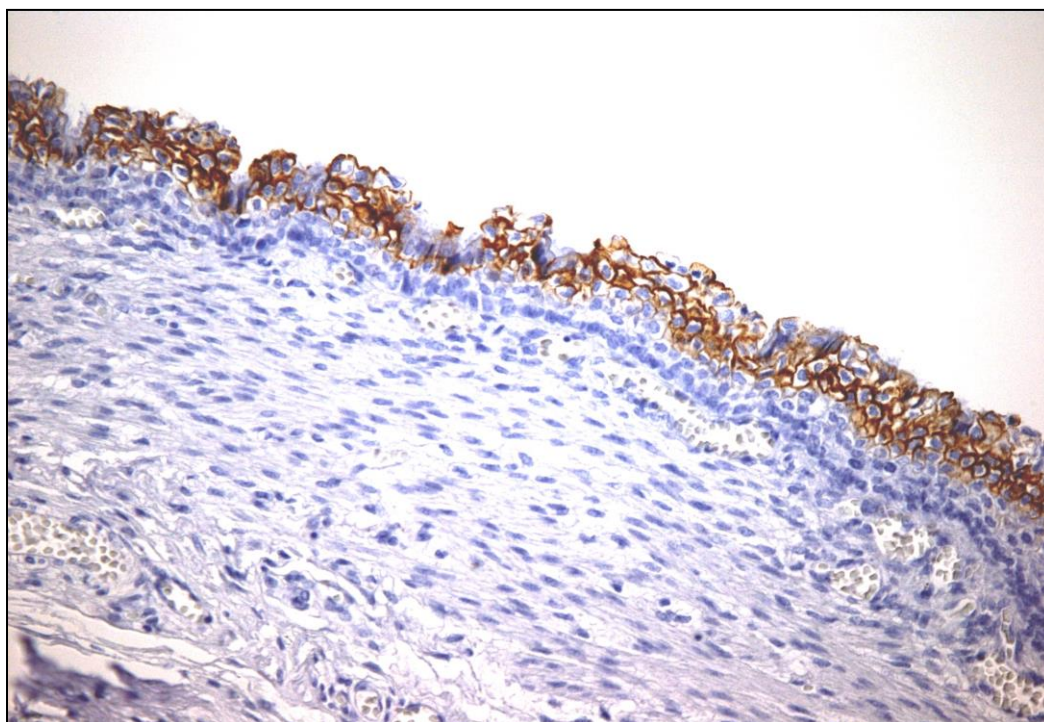


Рис. 3.3.9. Переходная зона у плода 22 недель гестации. Позитивное окрашивание клеток верхних слоев многослойного плоского эпителия в реакции с СК7. Иммунопериоксидазная реакция. Ув. X 400.

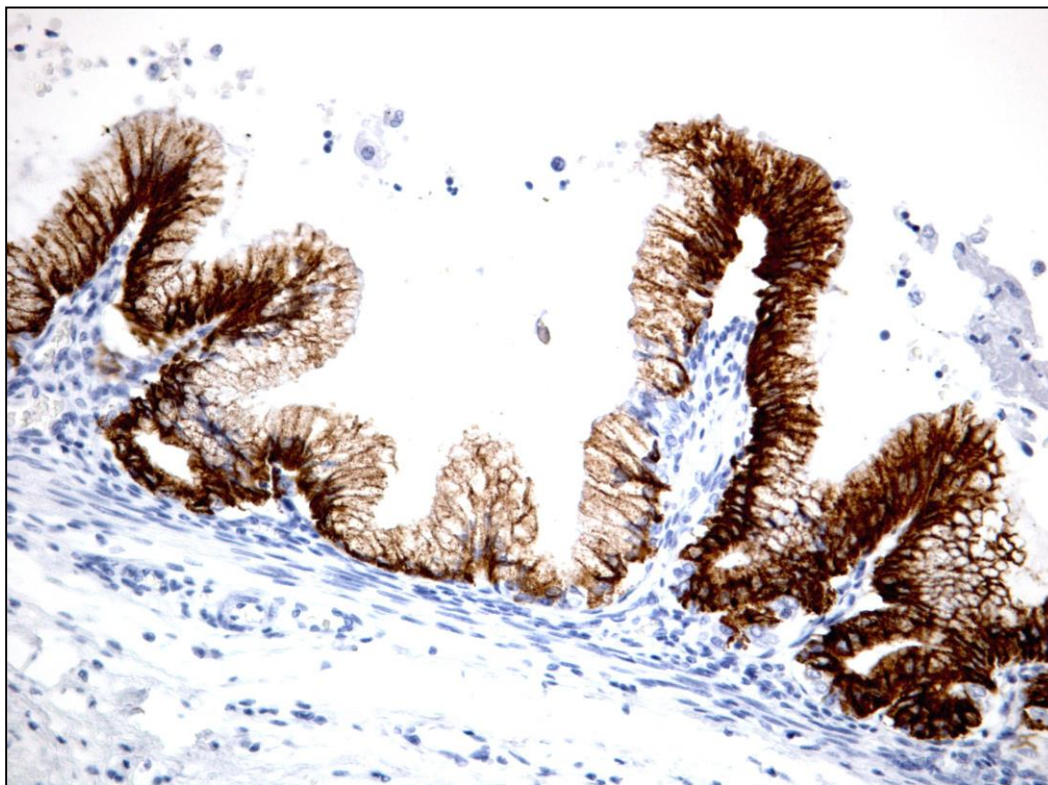


Рис. 3.3.10. Переходная зона у плода 22 недель гестации. Содержит высокие складки, покрытые высоким цилиндрическим эпителием позитивно окрашивающимся в реакции с антителом MUC5AC. Иммунопероксидазная реакция. Ув. X 400.

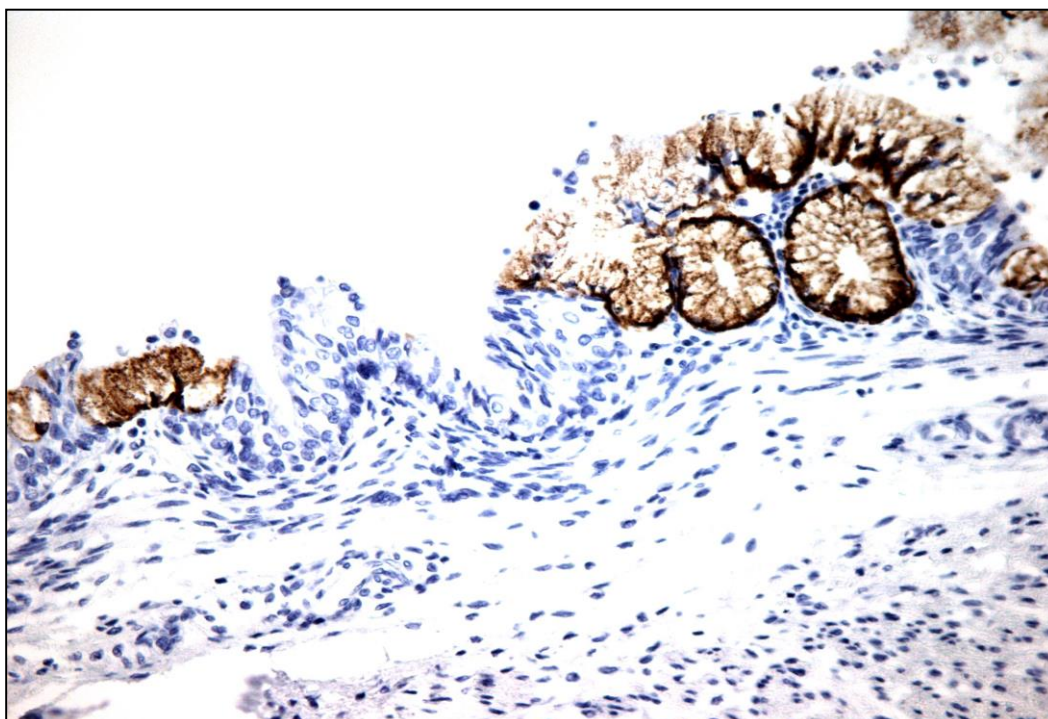


Рис. 3.3.11. Переходная зона у плода 24 недель гестации. В многослойном плоском эпителии определяются островки цилиндрических клеток и группы желез, позитивно окрашивающиеся в реакции с антителом MUC5AC. Иммунопероксидазная реакция. Ув. X 400 .

Экспрессия СК7 обнаруживалась в покровно-ямочном эпителии переходной зоны (Рис. 3.3.7). У плодов позитивное окрашивание отмечалось 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 (Рис. 3.3.8 и 3.3.9).

MUC5AC характеризовался высокой экспрессией в клетках фовеолярного эпителия переходной зоны (Рис. 3.3.10 и 3.3.11).

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 росто-весовых показателей плодов и новорожденных и длины переходной зоны представлено на диаграммах (Рис. 3.3.12).

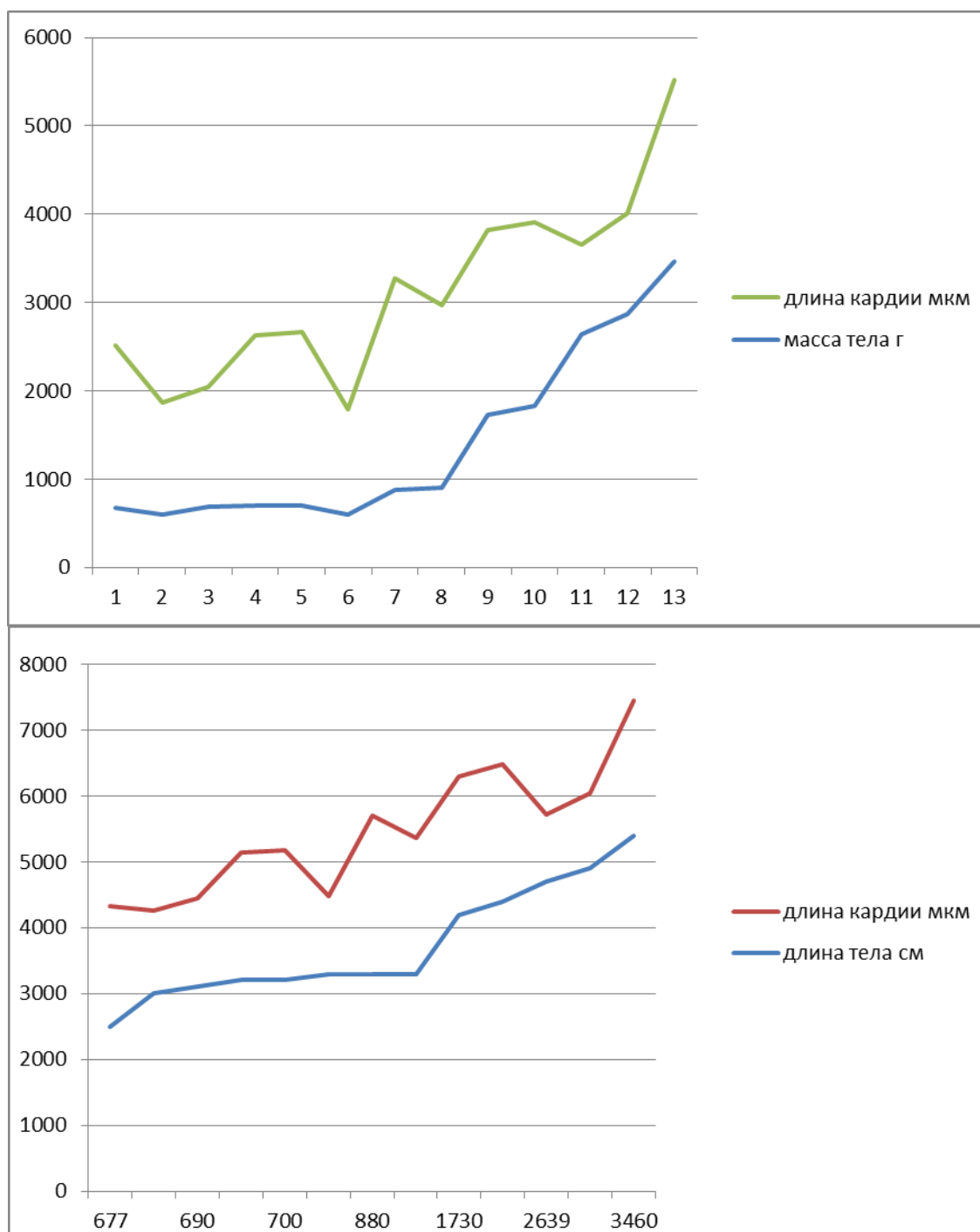


Рис. 3.3.12. Диаграммы соотношения росто-весовых показателей плодов и новорожденных и длины кардии.

На диаграммах хорошо просматривается повышение росто-весовых показателей с увеличением срока гестации, при этом длина переходной зоны не имеет такой тенденции и находится в строго очерченных границах.

3.4 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.

В Таблице 3.4.1 приведены основные морфологические характеристики, обнаруженные в биоптатах, покрытых цилиндрическим эпителием. Помимо цилиндрического эпителия, в этом же биоптате определялись участки многорядного (10 из 28 больных) и многослойного плоского эпителия (11 из 28 больных). Все три варианта эпителия были представлены в 5 из 28 случаев.

Таблица 3.4.1

Гистологические характеристики кардии

Эпителий	
Цилиндрический	28
Цилиндрический и многорядный	10/28
Цилиндрический и многослойный	11/28
плоский	5/28
Цилиндрический, многорядный и многослойный плоский	

Железы	
Слизистые	3/28
Слизистые с наличием в составе парietальных клеток	7/28
Оба варианта слизистых желез	5/28
Главные железы	4/28
Трубчатые железы с наличием бокаловидных клеток	1/28
Воспаление	
Лимфо-плазмоцитарная инфильтрация	20/28
Признаки активности воспаления	8/28
Лимфоидные скопления и лимфоидные фолликулы	5/28

Характеристика обнаруженных желез была следующей: у 3 из 28 больных обнаруживались разветвленные слизистые железы, у 7 из 28 обнаруживались слизистые железы, которые содержали в своем составе парietальные клетки, оба варианта желез были обнаружены у 5 больных, главные железы у 4 больных. В одном случае в составе трубчатых желез обнаруживались бокаловидные клетки. В 8 из 28 случаев железы не определялись (рис.3.4.1-3.4.6).

При проведении гистохимического исследования с помощью комбинированной окраски PAS+AB (pH2.5), которая позволяет проводить одновременное обнаружение нейтральных и кислых муцинов в 5 из 28 случаев в цитоплазме клеток определялось накопление кислых муцинов. В одном из этих наблюдений это накопление происходило в цитоплазме бокаловидных клеток, а в оставшихся случаях клетки сохраняли цилиндрическую форму и гистологические характеристики покровного цилиндрического эпителия с увеличенным объемом оптически пустой цитоплазмы при окраске гематоксилином и эозином (Рис. 3.4.7-3.4.9).

Признаки хронического воспаления обнаруживались в участках покрытых цилиндрическим эпителием в подавляющем большинстве случаев (20 из 28), в 8 случаях воспаление сопровождалось значительной примесью лейкоцитов в

инфильтрате. В 5 из 28 случаев было отмечено образование мелких лимфоидных скоплений и формирование лимфоидных фолликулов.

В случаях с морфологическими признаками активности с целью выявления *H. pylori* нами была использована высокочувствительная ИГХ реакция. Ни в одном из случаев нам не удалось обнаружить *H. pylori* в биоптатах, покрытых цилиндрическим эпителием.

Уреазный Де-нол тест направленный на экспресс диагностику *H. pylori* в антральном отделе желудка оказался положительным в большинстве случаев (23 из 28 случаев). Морфологическое подтверждение теста в виде обнаружения хронического активного антрального хеликобактерного гастрита было получено у 12 больных.

Сравнение по результатам эндоскопического исследование эрозивных и неэрозивных форм ГЭРБ показало редкое обнаружение кардиальной слизистой оболочки при эрозивной форме (7 из 28 случаев) по сравнению с неэрозивными формами.

При сравнении с росто-весовыми параметрами, избыточная масса тела была отмечена у 17 из 28 больных. Всего из 63 больных, включенных в исследование, с избыточным весом было 37 детей ($SDS +1,03 \pm 2,72$) и 26 детей с нормальной массой тела ($SDS -0,90 \pm 0,93$).

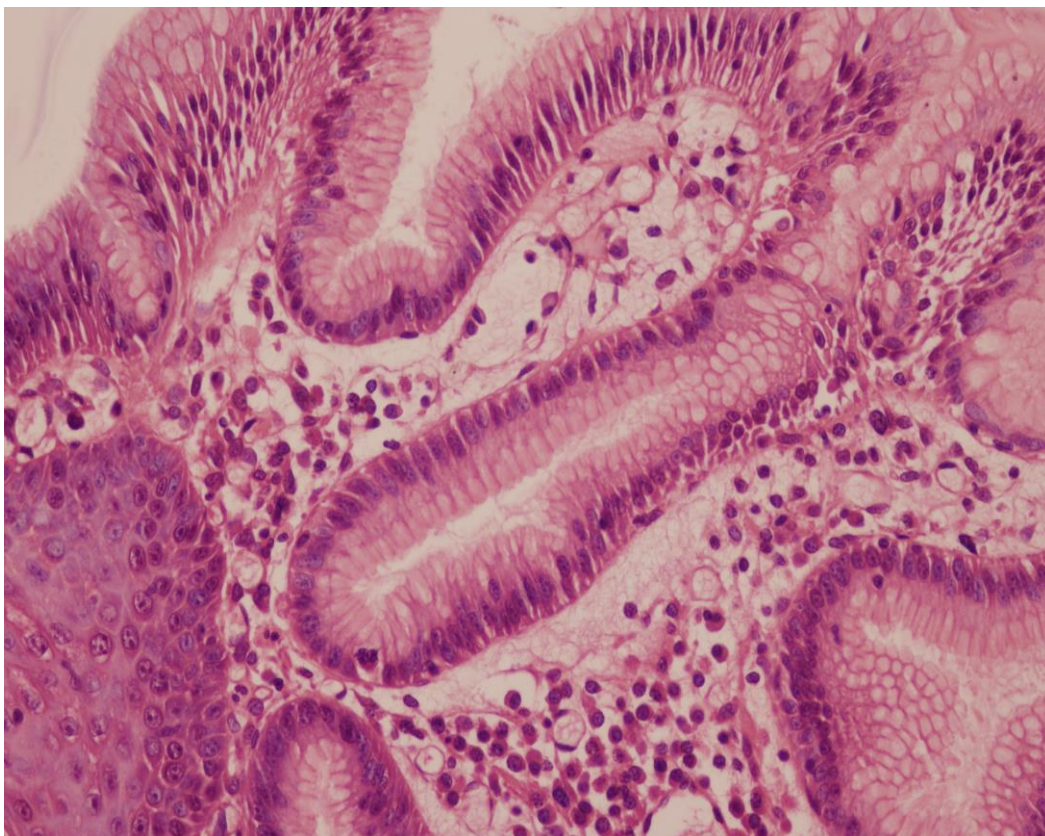


Рис. 3.4.1. Биоптат из зоны пищеводно-желудочного перехода содержит участок многослойного плоского эпителия (в левом нижнем углу) и слизистую оболочку, покрытую цилиндрическим эпителием желудочного типа. В собственной пластинке умеренно выраженная лимфо-плазмоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 400.

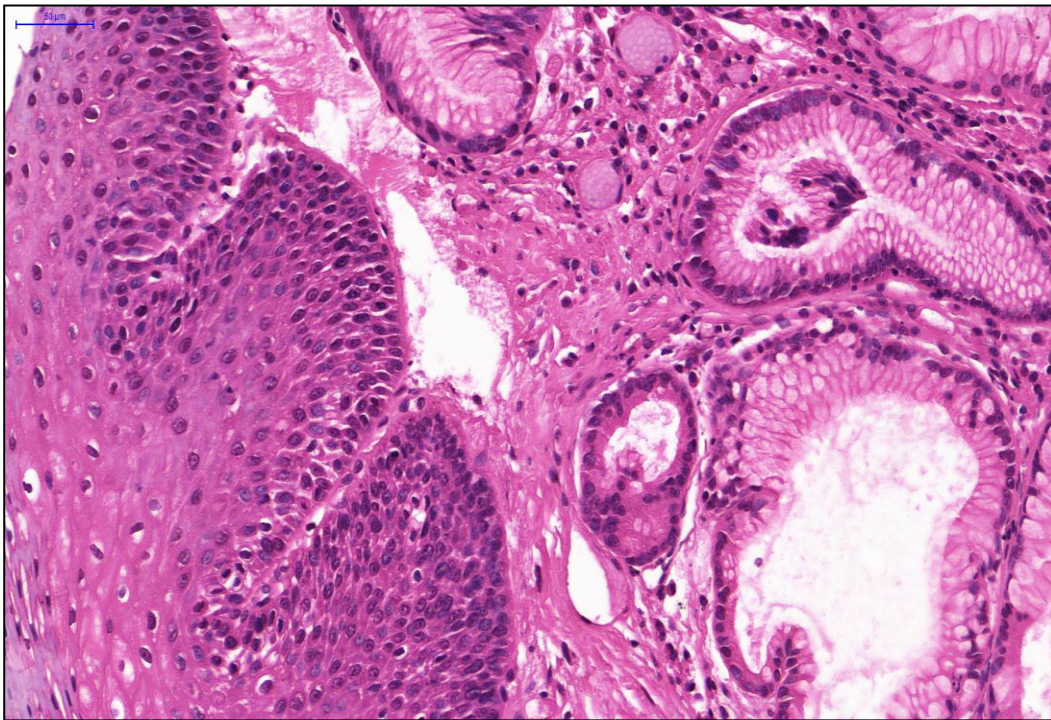


Рис. 3.4.2. Биоптат из зоны пищеводно-желудочного перехода содержит участок многослойного плоского эпителия с умеренным акантозом и гиперплазией базального слоя. В собственной пластинке кистозно расширенные железы, выстланные цилиндрическим желудочным эпителием. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 400.

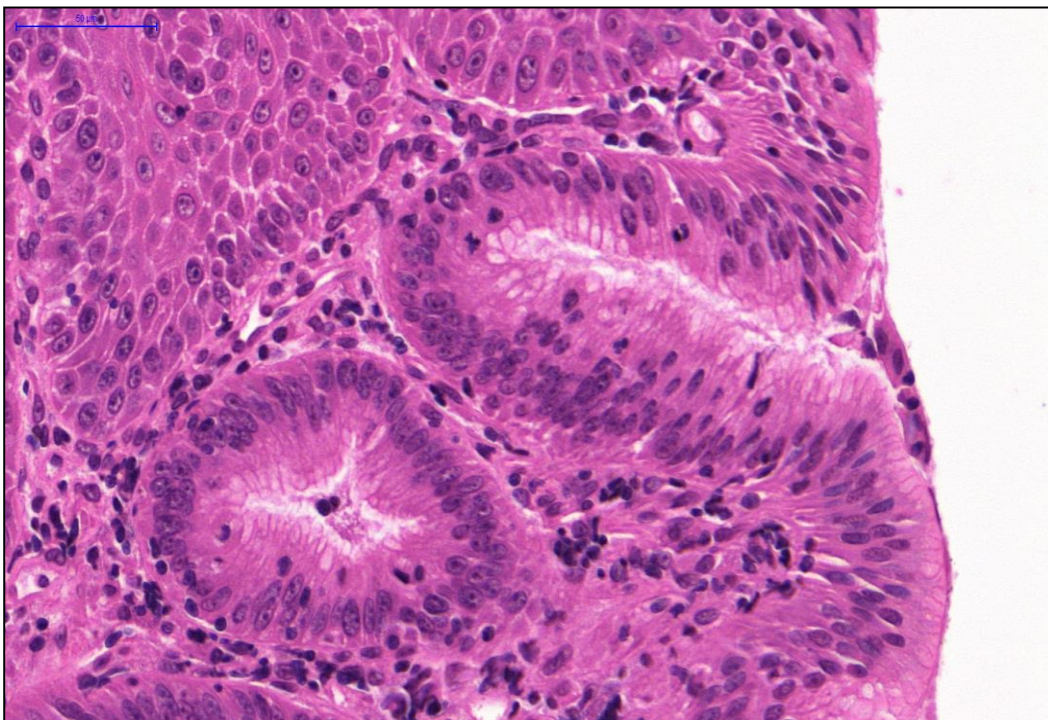


Рис. 3.4.3. Биоптат из зоны пищеводно-желудочного перехода представлен слизистой оболочкой, покрытой многорядным эпителием желудочного типа. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x 400.

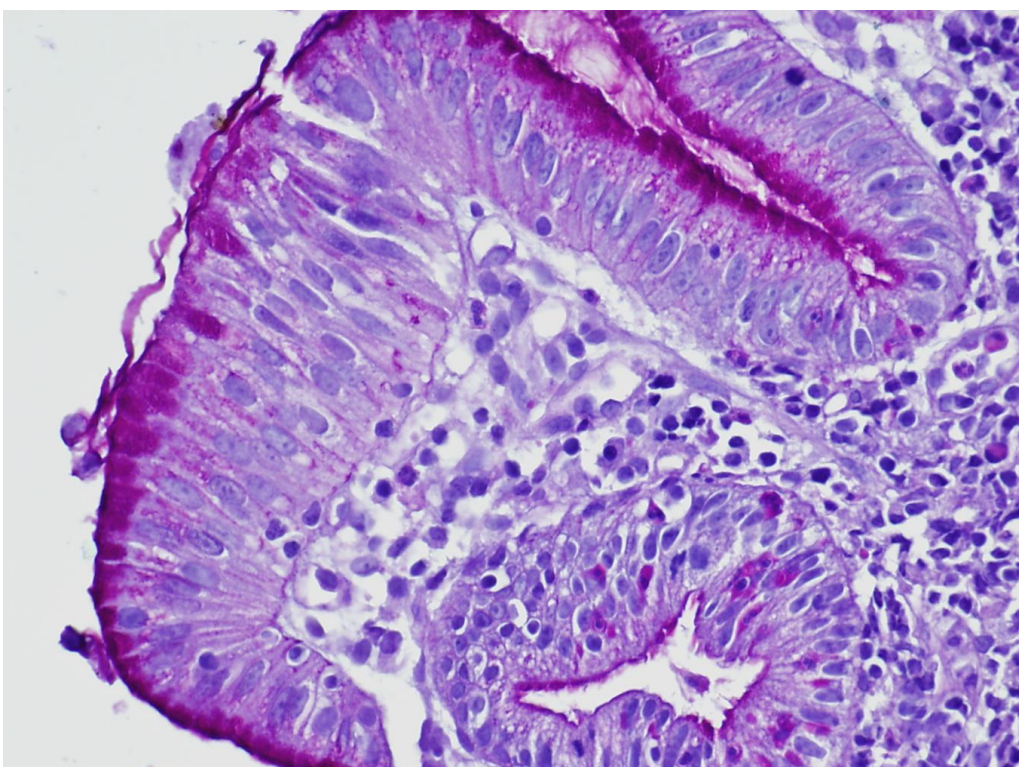


Рис. 3.4.4. Биоптат из зоны пищеводно-желудочного перехода представлен слизистой оболочкой, покрытой многорядным эпителием желудочного типа с низким содержанием нейтральных муцинов. В собственной пластинке умеренно выраженная

лимфо-плазмочитарная инфильтрация с примесью сегменто-ядерных лейкоцитов, инфильтрирующих эпителий. Окраска комбинированная: шик-реакция с альциановым синим(рН2.5). Ув. X 600.

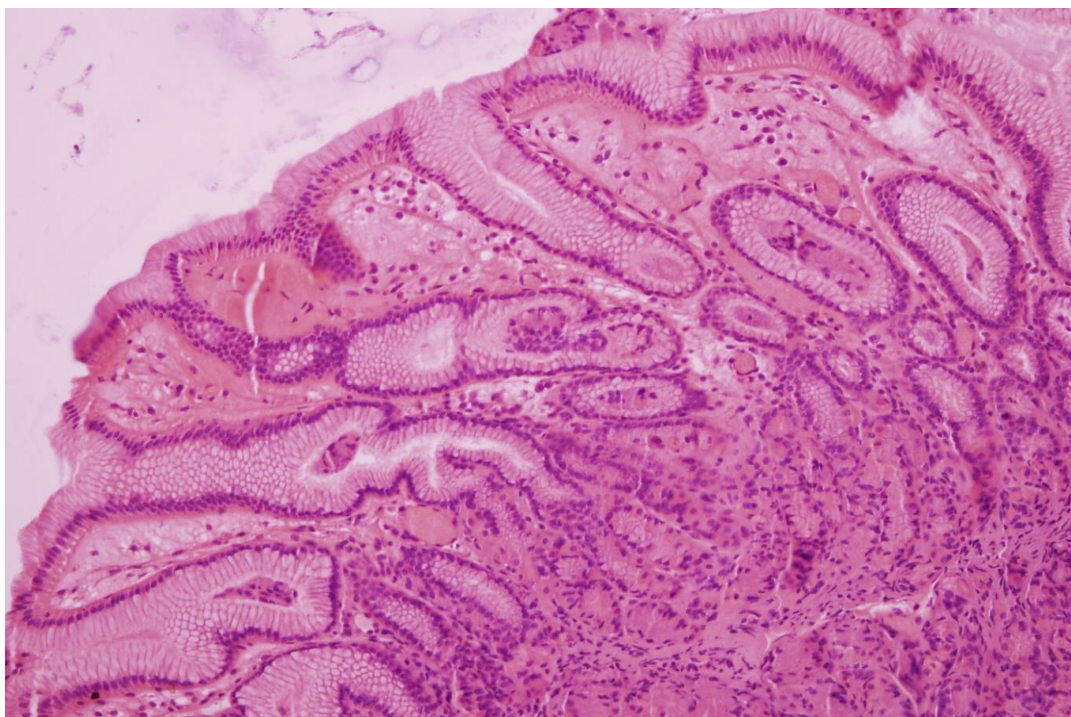


Рис. 3.4.5. Биоптат из зоны пищеводно-желудочного перехода представлен слизистой оболочкой, покрытой цилиндрическим эпителием желудочного типа и слизистыми железами, содержащими обкладочные клетки. В собственной пластинке выраженный отек и минимальная лимфо-плазмочитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x 200.

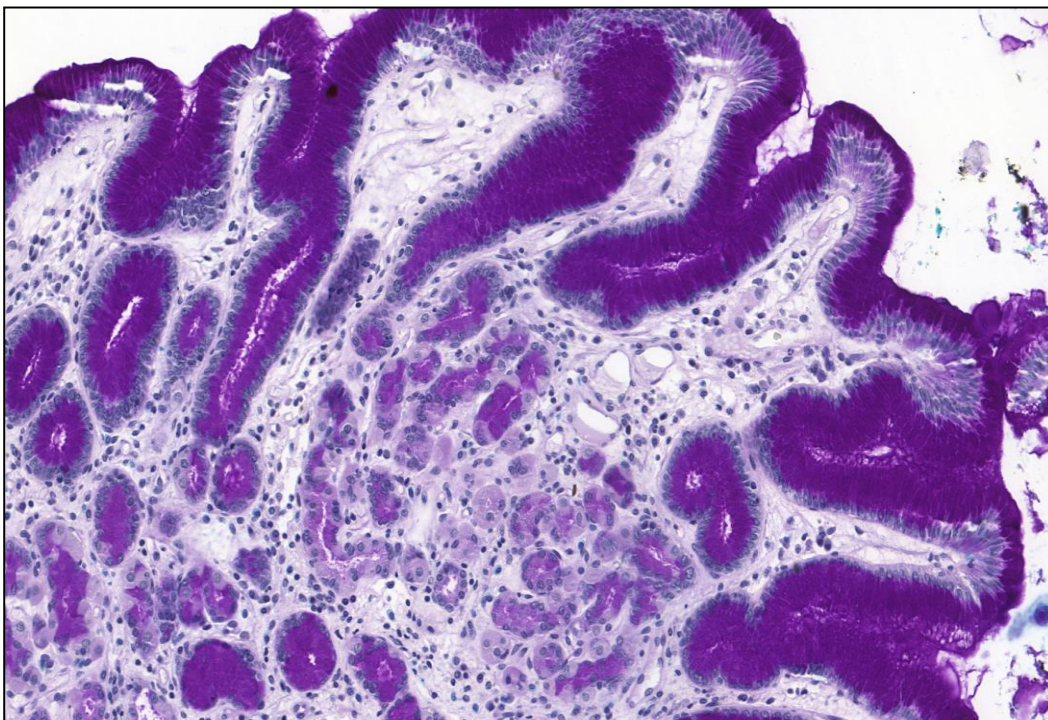


Рис. 3.4.6. Биоптат из зоны пищеводно-желудочного перехода содержит участок многослойного плоского эпителия (в левом нижнем углу) и слизистую оболочку, покрытую цилиндрическим эпителием желудочного типа. В собственной пластинке умеренно выраженная лимфо-плазмочитарная инфильтрация. Окраска комбинированная: шик-реакция с альциановым синим(рН2.5). Ув. x 200.

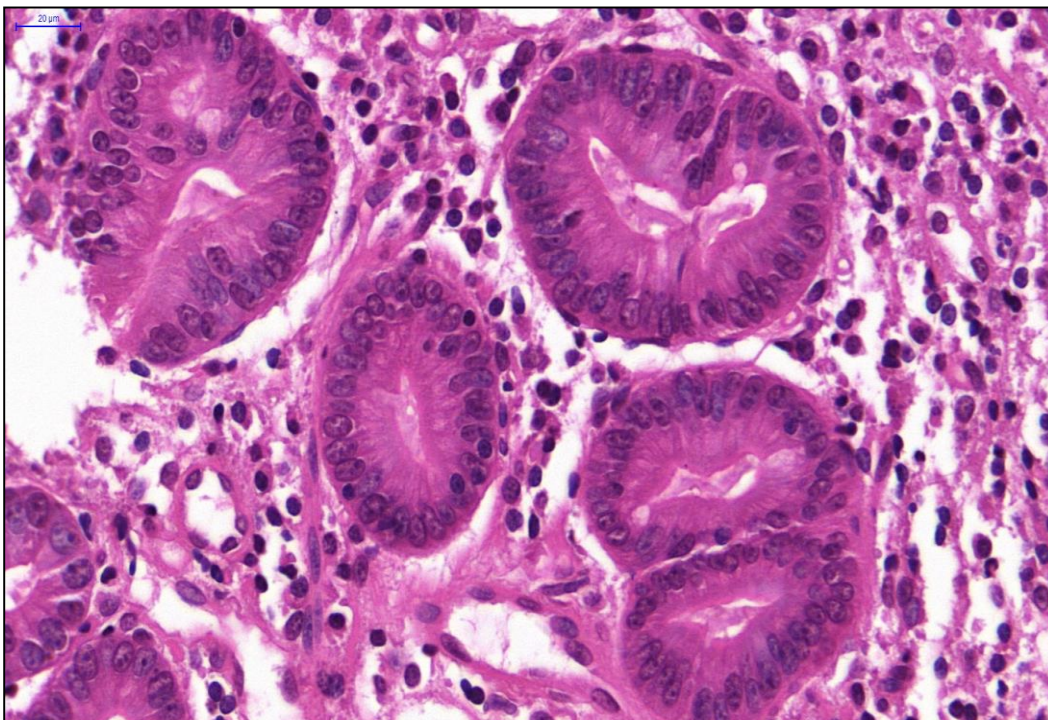


Рис. 3.4.7. Группы желез, в которых обнаруживаются одиночные мелкие бокаловидные клетки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 600.

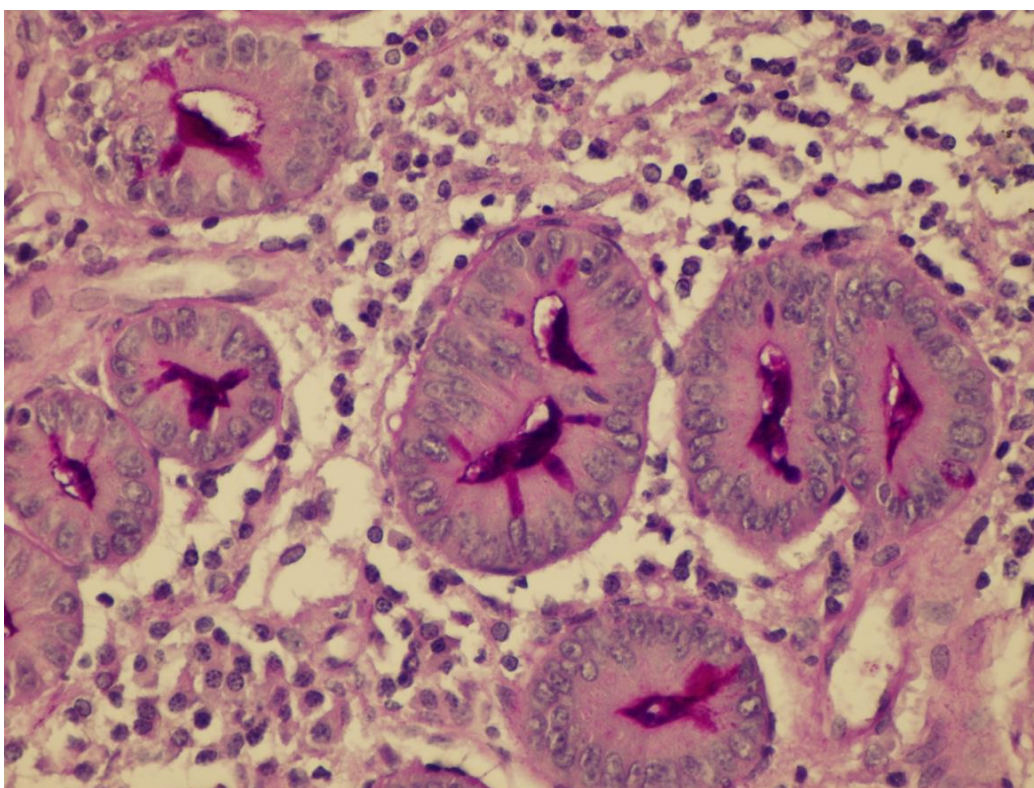


Рис. 3.4.8. Группы желез, в которых обнаруживаются одиночные мелкие бокаловидные клетки. Окраска комбинированная: шик-реакция с альциановым синим(pH2.5). Ув. х 600.

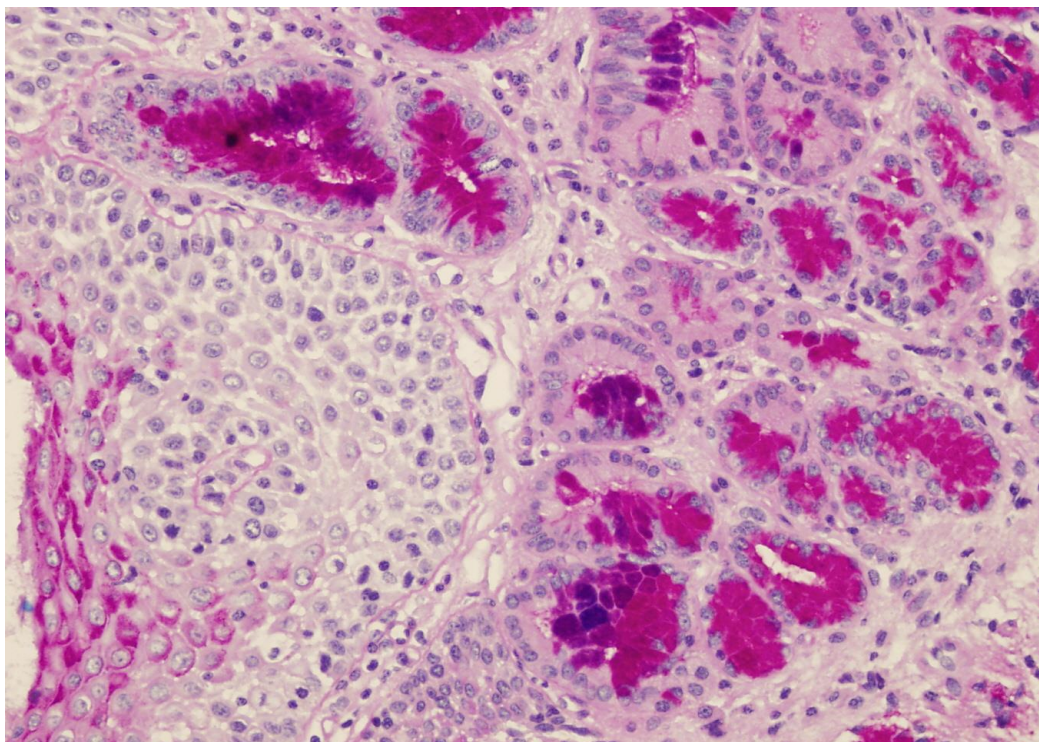


Рис. 3.4.9. Биоптат из зоны пищеводно-желудочного перехода содержит участок многослойного плоского эпителия (в левом нижнем углу) и слизистые железы. В цитоплазме части клеток отмечается накопление кислых муцинов, обнаруживаемых по темно-синему окрашиванию. Окраска комбинированная: шик-реакция с альциановым синим(pH2.5). Ув. x 400.

Результаты нашего исследования показали, что слизистая оболочка из зоны пищеводно-желудочного перехода может содержать участки, покрытые цилиндрическим эпителием у 44.4% детей при взятии у них биоптатов на участке 0.5-1.0 см выше зубчатой линии. Помимо цилиндрического эпителия с приблизительно одинаковой частотой 37-39% в биоптатах может обнаруживаться многорядный и многослойный плоский эпителий.

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 будет следующим слизистые (20%) и слизистые с наличием в составе желез париетальных клеток (10%) и оба варианта желез (30%). В остальных случаях помимо покровного эпителия железы в биоптатах

не определялись. 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 образованием скоплений на поверхности сегментоядерных лейкоцитов в 28.6%, обнаружение лимфоидных фолликулов и лимфоидных скоплений в 17.9% случаев.

Оказалось, что воспаление в подавляющем большинстве случаев (82.1%) наблюдалось при наличии *H. pylori* ($p < 0.001$). Морфологически подтвержденный хеликобактериоз по результатам изучения биоптатов антрального отдела желудка наблюдался только в половине этих случаев. Активное воспаление с большим количеством лейкоцитов и обнаружение 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 ИГХ метода обнаружения возбудителя с использованием антител. Выраженность эндоскопических изменений не приводила к увеличению частоты обнаружения слизистой оболочки, покрытой цилиндрическим эпителием, которая обнаруживалась 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 [9].

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-эзофагита путем снижения выработки соляной кислоты [11]. Данная точка зрения не поддерживается большинством исследователей. С другой стороны по данным многих отечественных авторов в детской популяции

высокий уровень инфицированности *H. pylori* [1] 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 обнаружения воспалительных изменений в слизистой оболочке пищеводно-желудочного перехода с избыточной массой тела ребенка. В этом наши данные 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 [11]. Мы не обнаружили повышения обнаружения слизистой оболочки, покрытой цилиндрическим эпителием у больных с эрозивными вариантами ГЭРБ по сравнению с неэрозивными.

Глава 4

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наши данные согласуются с существующей точкой зрения о незначительной информативности сопоставления результатов макроскопического (эндоскопического) и микроскопического исследования, которое на сегодняшний день остается «золотым стандартом» диагностики (Hassal et al 2000; Циммерман Я.С., Вологжанина Л.Г. 2006; Yousef M.M. et al. 2006).

При эндоскопическом исследовании эзофагит был диагностирован у 56% детей основной группы и у 67% детей группы сравнения, но гистологическое исследование выявило иную картину поражения СО пищевода. Дистрофические изменения СО пищевода носили распространенный характер, обнаруживались у большинства детей и не зависели от массы тела. Дисрегенераторные изменения СО 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. Наши данные согласуются с результатами исследования, в котором у детей с кислым ГЭР (65%), смешанным ГЭР (34%), щелочным ГЭР (68%) и физиологическим ГЭР (94%) при выявлялись морфологические признаки эзофагита 0-I степени [58]. Слабая и умеренная инфильтрация СО нижней трети пищевода мононуклеарами и нейтрофилами обнаружена у 90% взрослых больных с верифицированной ГЭРБ и клинически персистирующей изжогой [98]. У взрослых больных с ГЭРБ и ожирением дистрофические изменения диагностируются в 88%, эзофагит 0-I степени в 72% [11], что в целом совпадает с нашими данными.

Частота всех изученных изменений СО пищевода убывала в проксимальном направлении и была максимальной в непосредственной близости к нижнему пищеводному сфинктеру. Также мы можем утверждать, что в дистальном отделе пищевода редко встречались характерные признаки острого воспалительного процесса, при этом вблизи нижнего пищеводного сфинктера частота выявляемых признаков среди детей основной группы была несколько выше, чем у детей группы сравнения (различия статистически незначимы).

Результаты примененной балльной оценки совпадали с ранее проведенными морфологическими исследованиями СО пищевода. У подавляющего большинства

детей, имевших эндоскопический диагноз эзофагит, изменения СО пищевода, расценивавшиеся как норма, минимальные или слабо выраженные встречались у 86 - 95% детей независимо от массы тела.

Похожие данные были получены при морфологическом исследовании СО желудка, в котором отсутствовала взаимосвязь между воспалительными изменениями и выраженностью клинической симптоматики, характер морфологических изменений не зависел от клинического варианта функциональной диспепсии [105, 91, 101]. Морфологические изменения отсутствовали в 79,1% биопсий ДПК, взятых во время эндоскопического исследования у детей при необъяснимой рвоте, абдоминалгиях, подозрении на кислотозависимые заболевания, ГЭР, железодефицитную анемию и болезнь Крона; лямблии были обнаружены у 4,9%, умеренное хроническое воспаление у 6,5% и увеличение количества внутриэпителиальных лимфоцитов у 3,9% детей [161].

При эрозивном эзофагите умеренно выраженные и тяжелые изменения СО пищевода среди детей основной группы достигали 38%, что подтверждало необходимость выполнения алгоритмов терапии эрозивно-язвенных процессов ВОПТ. Проведенное иммуногистохимическое исследование воспалительных и эрозивных изменений СО пищевода показало статистически значимое повышение количества Т лимфоцитов в эпителиальном слое дистального отдела пищевода, соответствующем месту поражения. К сожалению, существует очень мало публикаций, содержащих абсолютные количественные данные, только в единичных приводится площадь подсчета, а в остальных она не оговаривается, что делает невозможным сравнительный анализ представленных результатов исследований [126, 133]. Тем не менее в литературе поддерживается точка зрения об увеличении количества Т-клеток при хроническом воспалении СО пищевода у детей [133].

Также непосредственно вблизи месторасположения полипа и/или эрозивного дефекта СО пищевода увеличивалась плотность инфильтрата антигенпрезентирующих клеток Лангерганса. Наши данные (46-21 клетка на 1мм^2) сопоставимы с количеством клеток Лангерганса в СО пищевода взрослых здоровых пациентов, которое составляет 30 клеток на условную площадь 1мм^2 [126]. Количество клеток Лангерганса было повышено у 48% больных с ГЭРБ, 31% больных с раком пищевода, 32% больных, не страдавших ГЭРБ и у 19% здоровых взрослых (методика подсчета клеток не представлена) [81;171]. При рутинном гистологическом

исследовании повышение количества внутриэпителиальных лимфоцитов обнаруживалось лишь у 1/3 детей с воспалительными и эрозивными поражениями СО пищевода. Полученные результаты подтверждают существование хронического воспаления при наличии полипов и/или эрозии СО пищевода. Было показано, что у 13% детей наблюдалось образование полипов, явившийся поводом для эндоскопической полипэктомии [75], после которой в течение 8 лет полипы рецидивировали у 46% детей [80]. Эти данные позволяют рекомендовать обязательное иммуногистохимическое исследование биоптатов полипов и эрозий с целью определения интенсивности воспалительного процесса.

Таким образом, обнаруженные морфологические признаки свидетельствовали о наличии постоянного невысокого рефлюкса желудочного содержимого в просвет пищевода у детей обеих групп, что находило свое отражение в существенном преобладании регенераторных процессов над воспалительными. Обнаруженные морфологические изменения, вероятно, могут носить обратимый характер, поскольку они совпадали с выявленными привычками питания у детей обеих групп, подавляющее большинство которых не придерживалось диетических рекомендаций и не соблюдало режим питания.

У детей с избыточной массой тела морфологические признаки рефлюкс-эзофагита 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 у взрослых с ожирением. Согласно данным литературы гистологические признаки рефлюкс-эзофагита были обнаружены у 65% детей с нормальной массой тела, у 69% детей с избыточной массой тела и у 68% детей с ожирением ($P > 0.05$). Мультивариантный анализ не выявил связи между ГЭРБ и возрастом детей и SDS ИМТ [141]. В другом исследовании рефлюкс-эзофагит также обнаруживался практически с одинаковой частотой у детей с избыточной и нормальной массой тела (23.9% и 24.5%, соответственно) [112]. У детей с избыточной массой тела, имевших клинические симптомы ГЭРБ и принимавших антирефлюксную терапию, морфологические признаки рефлюкс-эзофагита встречались статистически значимо в 4 раза чаще, чем у детей без клинических симптомов и соответственно не принимавших антrefлюксные препараты [112].

Наши результаты близки с данными Elitsur Y, обнаружившим среди 738 детей отсутствие связи между ГЭРБ, возрастом и SDS ИМТ, при этом морфологические

признаки рефлюкс-эзофагита одинаково часто встречались у детей с нормальной, избыточной массой тела и ожирением (65%, 69% и 68% детей соответственно, $p > 0,05$).

Мы предполагали, что наличие переходной зоны в эмбриональном периоде будет свидетельствовать в пользу ее желудочного происхождения. Её отсутствие указывало бы в пользу метапластической природы возникновения переходной зоны после рождения.

Хотя хорошо сформированная слизистая оболочка тела желудка обнаруживалась во всех исследованных случаях, она всегда была отграничена от многослойного плоского эпителия пищевода переходной зоной. Эти данные согласуются с данными других авторов, в которых у взрослых в 99% случаев обнаруживалась кардиальная слизистая оболочка, длина которой достигала 33 мм [8]. В исследовании у детей кардиальная слизистая оболочка была обнаружена во всех случаях и её средняя длина составила 1.8 мм [10]. В группе из 59 детей без пищевода Барретта переходная зона была обнаружена во всех случаях, при этом в 59% случаев она состояла из слизистых желез и в 41% случаев из смешанных желез [7]. Ни в одном случае многослойный плоский эпителий не переходил сразу в слизистую оболочку тела желудка. Используя PAS окраску, Kilgore с соавторами показали наличие слизистых и смешанных желез в дистальных отделах переходной зоны. Ни один ребенок в этом исследовании не имел признаков гастроэзофагеальной рефлюксной болезни или пищевода Барретта [9]. Все эти данные свидетельствуют в пользу желудочного происхождения переходной зоны. Вариабельность в длине и структуре переходной зоны отражают пластичность и динамический характер зоны пищеводно-желудочного перехода.

Все вышеперечисленное и результаты нашей работы позволяют сделать заключение, что кардиальная слизистая оболочка, переходная зона и зона пищеводно-желудочного перехода являются синонимами и что эта зона появляется до рождения в процессе эмбрионального развития и является желудочной по своему происхождению.

Согласно противоположным взглядам кардиальная слизистая оболочка является результатом метаплазии многослойного плоского эпителия пищевода, которая возникает в результате нарушения работы нижнего пищеводного сфинктера под воздействием заброса кислого желудочного содержимого [2-4]. Наличие такой

метаплазированной слизистой оболочки всегда сочеталось с наличием воспалительной инфильтрации эозинофильными лейкоцитами и плазматическими клетками собственной пластинки кардиальной слизистой оболочки [4].

В нашем исследовании воспаление в переходной зоне отсутствовало. По данным других авторов [7] воспаление обнаруживалось чаще в переходной зоне, содержащей слизистые железы, по сравнению с переходной зоной с наличием смешанных желез. Эти данные могут свидетельствовать в пользу предположения о влиянии гастроэзофагеального рефлюкса на формирование слизистых желез в переходной зоне. Возможно, смешанные железы могут быть более чувствительны к воздействиям, оказываемым на них кислотой или инфекционными агентами. Воспаление в слизистой оболочке может приводить к потере париетальных клеток и последовательной убыли смешанных желез. В любом случае отсутствие воспаления в переходной зоне до рождения свидетельствует против метапластической теории возникновения кардиальной слизистой оболочки. Её возникновению в желудке не противоречат данные о возможном участии гастроэзофагеального рефлюкса в образовании кардиальной слизистой оболочки. Chandross с соавторами [84] не смогли обнаружить кардиальную слизистую оболочку у 9 из 11 больных в возрасте до 19 лет без рефлюкса, в то время как мы смогли показать ее наличие у плодов, у которых рефлюкс не может играть определяющую роль.

Существуют сложности в определении гистологического строения кардиальной слизистой оболочки. По мнению некоторых исследователей кардиальная слизистая оболочка не должна содержать париетальных клеток в составе желез [5], в то время как большинство считают наличие отдельных париетальных клеток в составе слизистых желез характерным гистологическим признаком кардиальной слизистой оболочки [8]. В нашем исследовании мы смогли показать, что переходная зона у плодов содержит слизистые железы и их количество увеличивается со сроком гестации. Наши данные согласуются с данными других авторов [10], которые показали незрелость желез кардиальной слизистой оболочки до рождения по результатам обнаруживаемых в эпителии переходной зоны муцинов. Следует подчеркнуть, что характер обнаруживаемой экспрессии CK7 и MUC5AC во многом напоминает изменения, наблюдаемые при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и пищеводе Барретта [6, 7].

Возникает вопрос, как называть обнаруженную в зоне пищеводно-желудочного перехода слизистую оболочку? Слизистая оболочка зоны пищеводно-желудочного перехода, покрытая цилиндрическим эпителием кажется нам достаточно громоздким названием. Термин «кардия», хотя и вызывает много споров и дискуссий [2, 4], является по нашему мнению предпочтительным.

Для решения вопроса о природе кардии были предприняты попытки ее изучения у добровольцев. При изучении 80 добровольцев в Швеции кардиальная слизистая оболочка была обнаружена у 48 (60%) [10].

Еще дальше пошли исследователи из Хьюстона. В качестве добровольцев они привлекли медицинских работников. Из 226 участников исследования кардиальная слизистая оболочка была обнаружена у 191 добровольца (84.5%). Активный кардит был обнаружен у 58 участников исследования (30.4%), хронический кардит у 133 (69.6%), кишечная метаплазия у 29 (15.2%), и панкреатическая метаплазия у 25 (13%) [5].

В нашем исследовании в 8 из 28 случаев обнаружения слизистой оболочки, покрытой цилиндрическим эпителием, из-за небольшого объема биоптата нам не удалось обнаружить желез. Мы также не можем полностью исключить, что в зоне пищеводно-желудочного перехода у детей может располагаться зона, представленная исключительно желудочными ямками и не содержащая желез. Такую же картину мы могли наблюдать при изучении пищевода плодов. Эта зона заслуживает получить название особой переходной зоны.

Для того, чтобы выявлять патогенетические связи нужно вначале определиться, какова природа кардии.

Если стать на позицию, что кардия всегда является результатом метаплазии многослойного плоского эпителия в результате ГЭРБ, то мы вынуждены перейти к проблеме ПБ.

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 данными, полученными Герасимовой Н.В. с соавт., 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 гистологически. 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.

Ситуация резко измениться, если признать существование кардиального отдела желудка как нормальной переходной зоны, расположенной на границе пищевода и желудка. Это место перехода давно и хорошо известно эндоскопистам, во всех руководствах по эндоскопии в норме можно видеть участок розовой кардии, видимый при смыкании пищеводного сфинктера и протяженность такой слизистой может достигать 1.5 см, а по некоторым данным последних лет, отдельные эндоскописты рассматривают как норму ее протяженность даже до 3-4 см, но при этом граница зубчатой линии всегда ровная, а слизистая оболочка кардии не имеет признаков поражения.

Что нам дает вся эта дискуссия?! Все равно нам приходится использовать термин «кардит» (рефлюкс - кардит, хронический кардит). В гистологическом заключении мы даем описание, характеризуя покровный эпителий, железы, воспаление, метаплазию и другие возможные изменения. Если в биоптате обнаруживается помимо цилиндрического еще и многослойный плоский эпителий можно рекомендовать использовать обозначение «биоптат, взятый из зоны

пищеводно-желудочного перехода», который будет подразумевать наличие двух вариантов эпителия в одном биоптате.

Что это дает в практическом плане для гастроэнтеролога и какое отношение это имеет к тактике последующего наблюдения? В практической работе патологоанатом не всегда имеет в распоряжении результаты и протокол эндоскопического исследования. И в связи с этим в нашем единственном случае обнаружения кишечной метаплазии нами был поставлен диагноз ПБ. Можно поэтому 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.

Если включать в группу для последующего постоянного наблюдения все случаи обнаружения метаплазии, включая случаи желудочной метаплазии, как рекомендуют некоторые авторы, то количество больных подходящих под эти критерии резко возрастет. Это может оказать необоснованную нагрузку в том числе и финансовую на систему здравоохранения, а также ляжет тяжелым психологическим грузом излишней настороженности на пациента и лечащего врача. При обзоре работ, посвященных проблеме ПБ у детей следует обратить внимание на работу Мухаметовой Е.М. [53]. Показанием к биопсии являлись воспалительные изменения слизистой оболочки нижней трети пищевода и Z-линии: изменения, которые визуально трактовались как эрозии линейной, округлой, овальной или неправильной формы, очаги атипичной слизистой оболочки. Для морфологического исследования во время ЭГДС брали биоптаты из дистального отдела пищевода по схеме: 4 фрагмента, расположенные на 12, 3, 6, 9 «часах» на 2 см выше Z- линии, а также из отдельных очагов измененной слизистой.

При подозрении на пищевод Барретта проводилась хромоэндоскопия с прицельной биопсией. Для этого при проведении ЭГДС через распылительный катетер на слизистую оболочку наносился краситель – 2-3% раствор Люголя или 0,5% раствор метиленового синего. Очаги метаплазии визуализировались как неокрашенные при окрашивании раствором Люголя или окрашивались в синий цвет

при окраске метиленовым синим. Пищевод Барретта диагностировали при выявлении метаплазии желудочного или кишечного типа. Были проанализированы данные ЭГДС у 3041 ребенка в возрасте от 1 до 18 лет (средний возраст $12 \pm 3,9$ лет), обследованных в УДКБ Первого МГМУ им. И.М.Сеченова за период 2004-2008 гг. по поводу различных заболеваний органов ЖКТ.

Группу исследования составили 117 детей в возрасте от 6 до 18 лет (средний возраст $13,82 \pm 2,21$ лет), страдающих ГЭРБ. У 13 пациентов (14,9%) была выявлена метаплазия слизистой оболочки пищевода (пищевод Барретта): в десяти случаях (11,5%) – по желудочному типу, в трех (3,4%) – по кишечному типу.

По данным Семенюк Л.А. [63] было показано, что уже в детском возрасте формируются предпосылки для развития пищевода Барретта и неопластических процессов. Это такие как: желудочная (13,6%) и тонкокишечная (3,6%) метаплазия слизистой оболочки пищевода, лейкоплакия (4,5%), дисплазия (6,8%),

Исследования выполнялись в течение 2000 – 2004 гг. Под наблюдением находилось 3694 детей в возрасте от 6 до 18 лет. Основная (1-я) группа насчитывала 110 человек (рис. 1, табл. 1). В нее вошли дети от 6 до 17 лет с эрозивным (74,5%) и эрозивно-язвенным (25,5%) рефлюкс-эзофагитом. Большинство составили мальчики – 61,8% (68 чел.), а девочки – 38,2% (42 чел.).

Хроническое воспаление в слизистой оболочке пищевода приводит к нарушению процессов репарации, пролиферации и регенерации эпителия. Метаплазии слизистой оболочки пищевода диагностированы у 17,2% детей с эрозивно-язвенным рефлюкс-эзофагитом. В 13,6 % случаев это была метаплазия по желудочному типу, а в 3,6% случаев – по тонкокишечному типу. Половина всех случаев метаплазии диагностирована нами благодаря применению эзофагохромоэндоскопии с 5% раствором Люголя.

У 6,8% пациентов 7 – 18 лет с эрозивно-язвенным рефлюкс-эзофагитом имели место диспластические изменения слизистой оболочки пищевода первой степени, у 4,5% – сформировались очаги лейкоплакии.

Нарушения процессов репарации, пролиферации и регенерации эпителия пищевода у детей служат основой для неопластических процессов в будущем.

Осложнения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни в виде язвенных поражений пищевода развиваются у 15,5% детей с деструктивными формами рефлюкс-эзофагита. На фоне эрозивно-язвенного рефлюкс-эзофагита формируются

предпосылки для развития пищевода Барретта и неопластических процессов в виде метаплазии по желудочному типу (13,6 %) и тонкокишечному типу (3,6%), дисплазии первой степени (6,8%) и лейкоплакии (4,5%).

По данным Герасимовой Н.В. [16] были подробно изучены истории болезней 2668 детей, поступивших в РДКБ за 2001-2004 годы в отделение гастроэнтерологии, а также анализ результатов 8143 исследований ВОПТ, выполненных за указанный период времени в отделении эндоскопической хирургии РДКБ. В основное исследование было включено 109 детей, у которых в процессе обследования были выявлены эрозии в пищеводе и признаки метаплазии эпителия. Диагноз ставился на основании эндоскопического исследования с биопсией слизистой оболочки пищевода и последующим гистологическим исследованием.

В результате гистологического исследования биоптатов слизистой оболочки нижней трети пищевода и Z-линии было выявлено у 59 (54,1%) детей эрозии, у 24 детей (22%) - желудочная метаплазия, и у 26 детей - кишечная метаплазия (23,8%)

В результате эндоскопического исследования у 85 детей (77,98%) были выявлены единичные дефекты, а у 24 (22,02%) – множественные. Следует особо отметить, что четких эндоскопических различий между эрозиями и метаплазиями не существует, метаплазия слизистой оболочки пищевода наиболее часто скрывается под маской длительно незаживающих дефектов нижней трети пищевода и Z-линии, трактуемых эндоскопистами как хронические эрозии, толерантные к проведению полноценной интенсивной лекарственной терапии.

Тщательный анализ эндоскопической картины позволил обнаружить, что при осмотре слизистой оболочки нижней трети пищевода и Z-линии эрозии определялись в виде линейных или клиновидных (расширенных на дистальном конце) участков ярко-красного цвета протяженностью от 5 до 15 мм. В 78% случаев по всей поверхности эрозии определились либо вкрапления фибрина, либо полоска фибрина, располагающаяся по длиннику эрозии. Края дефекта были четкими, ровными, иногда «подрытыми». По границе эрозии определялось утолщение окружающего эпителия слизистой оболочки пищевода, по-видимому, связанного с перифокальным отеком и воспалением. Эрозии визуально были как бы приподняты над поверхностью окружающей слизистой оболочки.

Последние публикации показывают, что первоначальный риск развития аденокарциномы пищевода на фоне ПБ был явно переоценен. Поэтому внимание

исследователей направлено на отнесение в группу риска больных с признаками дисплазии и на разработку критериев постановки диагноза дисплазии на фоне ПБ.

Что же касается истинной частоты встречаемости ПБ у детей, то следует обратить внимание на две работы. Одна из работ была проведена в нескольких американских центрах с привлечением специалистов экспертов эндоскопистов и морфологов. В этой работе, в которой осуществлялся постоянный контроль и анализ критериев эндоскопических и морфологических заключений частота ПБ составила 0.12%. Кишечная метаплазия была обнаружена в 1 случае из 840 детей, включенных в исследование. Эндоскопически ПБ был заподозрен в 12 случаях (1.43%) и подтвержден морфологически только в одном из них.

Эти данные подтвердила публикация голландских специалистов, которые провели анализ всех доступных в базах данных публикаций, посвященных ПБ у детей (всего таких было обнаружено 148). После этого для анализа были отобраны полнотекстовые статьи на английском языке. В этих публикациях всего было описано 176 больных детей с диагнозом ПБ. Диагноз ПБ на основании эндоскопической картины был установлен у 69 из 176, на основании результатов морфологического исследования у 21 и на основании эндоскопических данных с последующим морфологическим подтверждением только у 86 больных (49%). Следует подчеркнуть, что у 45 больных имелись предрасполагающие к развитию ПБ тяжелые анатомические и неврологические нарушения.

В части публикаций было невозможно точно охарактеризовать использованные критерии для постановки ПБ и привести их в соответствие с современными критериями. Результаты такого ретроспективного анализа показали варьирование частоты встречаемости ПБ у детей в широких пределах от 0.3 до 4.8%.

Следует подчеркнуть, что в первом цитируемом исследовании не были включены случаи врожденных аномалий пищевода и дети с тяжелыми неврологическими нарушениями. Для них должны существовать свои критерии и лечебные подходы, о чем достаточно подробно было сказано в работах Алхазова и Разумовского. При изучении проблемы ПБ в хирургическом стационаре за 5-летний период наблюдения за 78 больными с патологическим ГЭР пищевод Барретта был выявлен у 16 детей (20,5% случаев). Причем диагноз ПБ был установлен на основании данных морфологического исследования биоптатов, а результаты эндоскопического исследования во всех случаях были отрицательными.

Морфологическое исследование биоптатов выявило, что из 16 детей с ПБ у 6 - обнаружен фундальный тип метаплазии (1-й тип), у 11 детей - кардиальный тип метаплазии (2-й тип) и у 8 детей - специализированный цилиндрический тип или кишечная метаплазия тонкокишечного типа (3-й тип). Таким образом, если судить только на основании обнаружения кишечной метаплазии ПБ был диагностирован у 10.3% детей. Процент обнаружения ПБ у данной категории больных выше, чем в общей популяции. Результаты эндоскопического исследования при хирургической патологии не всегда могут оказаться четко визуализируемыми. Настороженность в отношении желудочной метаплазии может быть оправдана и ее обнаружение можно рассматривать как фактор риска.

У детей без данной патологии диагноз ПБ должен ставиться с особой осторожностью. Крайняя редкость данной патологии требует повторного анализа эндоскопических и морфологических данных для окончательного диагноза ПБ. Решение о проведении агрессивной лечебной тактики и тем более принятие решения о проведении оперативного лечения должны рассматриваться как крайняя мера у детей, учитывая отсутствие на сегодняшний день данных (из-за крайне низкого числа доказанных случаев) о степени вероятности его возможной опухолевой трансформации.

В заключении, наше исследование показывает, что кардия, содержащая слизистые железы и слизистые железы с париетальными клетками, часто обнаруживается у детей в зоне ПЖП при отсутствии макроскопически видимых изменений в характеристике и месте расположения 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 нам кажется интересным более частое обнаружение кардии у больных с избыточной массой тела, что с одной стороны может указывать на связь с рефлюксом, а с другой стороны указывать на необходимость дальнейшего поиска факторов,

которые могут быть ответственны за развитие патологических изменений в зоне пищеводно-желудочного перехода у детей.

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 дистального отдела пищевода, соответствующем месту поражения. Также непосредственно вблизи месторасположения полипа и/или эрозивного дефекта слизистой оболочки пищевода увеличивалась плотность инфильтрата антигенпрезентирующих клеток Лангерганса. При рутинном гистологическом исследовании повышение количества внутриэпителиальных лимфоцитов обнаруживалось лишь у 1/3 детей с воспалительными и эрозивными поражениями СО пищевода.

При эндоскопическом обнаружении полипов и эрозий слизистой оболочки пищевода всем детям показано иммуногистохимическое исследование биоптатов

полипов и эрозий с целью определения активности текущего воспалительного процесса. Диспансерное наблюдение за динамикой состояния слизистой оболочки пищевода у этой группы детей должно включать помимо эндоскопического и иммуногистохимическое исследование биоптата слизистой оболочки.

Наше исследование показало, что слизистая оболочка переходной зоны имеет желудочное происхождение и появляется до рождения в процессе нормального эмбрионального развития. Нами выявлено наличие островков цилиндрического эпителия и участки, содержащие реснитчатые клетки на поверхности многослойного плоского эпителия пищевода, что свидетельствует о неравномерном созревании многослойного плоского эпителия, которое 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.

Наше исследование показывает, что 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 характеристике и месте расположения 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 нам кажется интересным более частое обнаружение кардии у больных с избыточной массой тела, что с одной стороны может указывать на связь с рефлюксом, а с другой стороны указывать на необходимость дальнейшего поиска факторов, которые могут быть ответственны за развитие патологических изменений в зоне пищеводно-желудочного перехода у детей.

Если в качестве классического определения ПБ использовать обнаружение цилиндрического эпителия в дистальных отделах пищевода и стать на позицию, что кардия всегда является результатом метаплазии многослойного плоского эпителия в результате ГЭРБ, то в нашем исследовании частота встречаемости ПБ составит 44.4%. 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 гистологически. 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 у этого ребенка в повторно взятых множественных биоптатах кишечная метаплазия не была обнаружена.

В практической работе патологоанатом не всегда имеет в распоряжении результаты и протокол эндоскопического исследования. Можно поэтому 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: Триада-Х, 1998. – 496с.
2. Аруин Л.И. Пищевод Барретта и *Helicobacter pylori* // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2000. Т. 10. № 2. С. 5– 9.
3. Апенченко Ю.С. Гастроэзофагеальный рефлюкс и гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у детей. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2012. Т. 57. № 5. С. 89-95.
4. Балаганский Д.А., Киргизов И.В., Кошель А.П., Хамматов Н.Р. Эндоскопическая диагностика гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. // Российский педиатрический журнал. 2013. № 5. С. 31-35.
5. Басалаева Н.В., Апенченко Ю.С., Виноградов А.Ф., Копцева А.В., Микин В.М. Особенности формирования гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. // Вестник новых медицинских технологий. 2012. Т. XIX. № 2. С. 145-148.
6. Белова Г.В., Мельченко Д.С., Решетова Н.В.6 Франк Г.А., Соколов В.В. Пищевод Баррета: эндоскопические и иммуноморфологические параллели // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2010. № 10. С. 46-50.
7. Белоус Т.А. Пищевод Барретта: морфологические основы развития // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2002. Т. 12. № 5. С. 63–66.
8. Белоусов Ю.В. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь в детском возрасте. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2011. № 1. С. 64-71.
9. Бельмер С.В., Приворотский В.Ф. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у детей: отечественный рабочий протокол 2013 года // Лечащий врач. 2013. № 8. С. 66–71.
10. Вахрушев Я.М., Буторина Н.В. Изучение кардиальных проявлений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. //

- Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2010. № 9. С. 55-57.
11. Видманова Т.А., Жукова Е.А., Сыресина О.В. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у детей. // Медицинский альманах. 2010. № 4. С. 229-234.
 12. Видманова Т.А., Жукова Е.А., Сыресина О.В., Колесов С.А. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь в педиатрической практике. // приложение consilium medicum / Педиатрия. 2010. № 4. С.59-63.
 13. Выхристюк О.Ф., Корсунский А.А., Фомина О.С., Григорьева Н.К., Знаменская А.А., Корнюшин М.А., Русакова В.Д., Карапетова И.Р., Беляева А.С., Рахматуллина З.А. Динамическое наблюдение и современный протокол лечения детей с ГЭРБ и рефлюкс-эзофагитом. / Вопросы современной педиатрии. 2006. № 5. С. 124.
 14. Галимова Е.С. Заболевания органов пищеварения у больных бронхиальной астмой / Е.С. Галимова, Г.М. Нуртдинова, О.И. Кучер // Фундаментальные исследования. 2010. № 1. С. 36-40.
 15. Гастроэнтерология: национальное руководство / под ред. В.Т. Ивашкина, Т.Л. Лапиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. С.404-412.
 16. Герасимова Н.В., Мызин А.В., Бельмер С.В., Полюдов С.А. Гетерогенность метапластических изменений в пищеводе: дифференцированный диагностический и лечебный подходы. // Вопросы детской диетологии. 2006. Т. 4. № 3. С. 7-13.
 17. Герасимова Ю.А., Драб С.П. Случай гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у ребенка первого года жизни. // Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2013. Т. 3. № 3. С. 709-709.
 18. Годжелло Э.А., Галлингер Ю.И. Пищевод Баррета, аденокарцинома пищевода и задачи современной гастроэнтерологии // РЖГГК. 2001. Т. 6. С. 72-75.
 19. Драб С.П., Польгова Н.Н., Ивашкина Л.В. Особенности течения воспалительных заболеваний пищевода у детей.// Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2013. Т. 3. № 3. С. 714-714.
 20. Дубровская М.И. Гастроэзофагеальный рефлюкс у детей раннего возраста. // Практическая медицина. 2010. № 3. С. 7-11.

21. Дудникова Э.В., Давыдова Н.А., Ковалева Н.Н., Корсун О.Р.
Диагностика и лечение гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. // Вопросы диагностики в педиатрии. 2009. № 3. С. 714.
22. Жихарева Н.С. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у детей. // Медицинский совет. 2013. № 3. С. 34-41.
23. Зайратьянц О.В., Зайратьянц Г.О., Мовтаева П.Р. Проблемы современной гастроэнтерологии: пищевод Баррета. // Клиническая и экспериментальная морфология. 2012. №2. С. 9-16.
24. Зайратьянц О. В., Маев И. В., Смольяникова В. А., Мовтаева П. Р.
Патологическая анатомия пищевода Барретта. // Архив патологии. 2011. №3. С. 21-26.
25. Загорский С.Э., Жуковская Т.Н., Мельнов С.Б. Связь симптомов гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей старшего возраста и подростков с избыточной массой тела.// Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2012. № 4. С. 50-53.
26. Запруднов А.М., Буторина Н.В., Вахрушев Я.М. Исследование моторной функции желудка у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью. // Вопросы современной педиатрии. 2010. Т. 9. № 5. С. 14-16.
27. Ивашкин В.Т., Трухманов А.С. Современный подход к терапии гастроэзофагеальной рефлюксной болезни во врачебной практике // Рус. мед. журн. – 2003. – № 2. – С. 43–48.
28. Ивашкин В.Т. , Трухманов А.С. Болезни пищевода. Патологическая физиология, клиника, диагностика, лечение. - М.: Триада-Х., 2000. 180 с.
29. Исаков В. Эпидемиология ГЭРБ: восток и запад.
30. Кашин С.В., Зеевальд Ш., Иваников И.О., Никонов Е.Л. Пищевод Баррета: современные возможности диагностики, терапии, и снижения риска развития рака. // Доказательная медицина. 2012. № 2. С. 9-21.
31. Кириллов С.М. Патология пищеварительной системы у больных бронхиальной астмой: сравнительный анализ / С.М. Кириллов, М.М. Кириллов // Пульмонология. 2010. № 5. С. 85-89.
32. Кирова М.В. Оптимизация методов диагностики и лечения пищевода Баррета Автореферат дис.... канд.мед.наук. Москва. 2014.
33. Клиническая и экспериментальная гастроэнтерология »» 5, 2004

Материалы совместного курса постдипломного образования
Европейской ассоциации гастроэнтерологов и эндоскопистов и Научного
общества гастроэнтерологов России .

34. Кононов, А. В. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: взгляд морфолога на проблему // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2004. № 1. С. 71–77.
35. Корниенко Е.А., Филюшкина Е.И., Насыров Р.А., Антонов П.В. Гетерогенность хронических эзофагитов в детском возрасте. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2011. № 1. С. 9-13.
36. Лазебник Л.Б., Лычкова А.Э. Гастроэзофагеальный рефлекс у детей. // Вестник Российской академии медицинских наук. 2007. № 5. С. 48-54.
37. Лапина Т.Л. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: изменчивая и консервативная позиция. РМЖ. Болезни органов пищеварения. 2009; 9 (1): 1-4.
38. Лычкова А.Э. Патофизиология моторных нарушений кардиоэзофагеального перехода у детей. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2010. № 9. С. 44-51.
39. Лярская Н.В. Современные аспекты этиологии, патогенеза и клиники гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2008. Т. 7. № 2. С. 25-32.
40. Лярская Н.В. Современные методы диагностики гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2008. Т. 7. № 1. С. 74-81.
41. Лярская Н.В. Новый взгляд на проблему заболеваемости гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью у детей. // Охрана материнства и детства. 2007. № 2-10. С. 18-22.
42. Лярская Н.В. Частота и распространенность неэрозивной и эрозивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей // Материалы XIV конгресса детских гастроэнтерологов России. – М., 2007.
43. Маев И.В., Вьючнова Е.С., Щекина М.И. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь – болезнь XXI века // Лечащий врач. 2004. №4. С.10-14.
44. Маев И.В., Самсонов А.А., Белый П.А., Лебедева Е.Г. ГЭРБ - лидер кислотозависимой патологии ВО ЖКТ // Приложение Consilium

- Medicum. Гастроэнтерология. №1. 2012. С. 18-24.
45. Маев И.В., Дичева Д.Т., Биткова Т.Н., Березутская О.Е Клинические проявления кардиальной маски ГЭРБ: обзор литературы // 12-я научно-практич. конф. «Диагностика и лечение нарушений регул. сердечно-сосуд. сист.». М. 24 марта 2010. С. 62–70.
46. Мاستыкова Е.К., Конорев М.Р., Заблодский А.Н., Матвеев М.Е. Частота встречаемости эрозий при наличии желудочной метаплазии слизистой оболочки пищевода у детей старшей возрастной группы и взрослых. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2012. Т. 11. № 4. С. 59-63.
47. Матвеева У.В., Бораева Т.Т. Вопросы диагностики внепищеводных проявлений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей Северной Осетии. // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 2. С. 112-113.
48. Михалева Л.М., Бархина Т.Г., Щеголева Н.Н., Иванова Е.В., Голованова В.Е. Морфологические особенности слизистой оболочки пищевода при бронхиальной астме. // Клиническая и экспериментальная морфология. 2012. № 2. С. 17 — 21.
49. Михалева Л.М., Бархина Т.Г., Голованова В.Е. и др. Клинико-морфологическая характеристика эозинофильного эзофагита у пациента с бронхиальной астмой. //Архив патологии. 2012. №4. С.49-52.
50. Михалева Л.М., Бархина Т.Г., Голованова В.Е., Щеголева Н.Н., Грачева Н.А. Эозинофильный эзофагит при бронхиальной астме. Обзор литературы.//Клиническая медицина. 2012. №6. С. 7-11.
51. Могильная Г.М., Дурлештер В.М., Могильная В.Л.,Дряева Л.Г. Иммуногистохимические особенности пищевода Баррета // XVII Российская гастроэнтерологическая неделя. 10–12 октября 2011 г.
52. Мухаметова Е.М., Эрдес С.И. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у детей: эпидемиология, диагностические критерии, прогноз. // РЖГГК. 2010. № 1. С. 75-81.
53. Мухаметова Е. М. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у детей: клинические, эндоскопические, морфологические особенности

- и дифференцированный подход к лечению: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. 2011.
54. Непомнящих Д.Л. Биопсия в гастроэнтерологии: морфогенез общепатологических процессов / Д.Л. Непомнящих, Г.А. Лапий, С.В. Айдагулова /под ред. Г.И. Непомнящих. - М.: Изд-во РАМН. 2010. 363с.
55. Осадчук М.А., Золотовицкая А.М., Киреева Н.В., Николенко С.Н. , Кветной И.М. Клинико-эндоскопические и морфофункциональные показатели в оценке развития гастроэзофагеальной рефлюксной болезни в различных возрастных группах. // РЖГГК. 2012. № 5. С. 30-36.
56. Осадчук М.А., Свистунов А.А., Осадчук М.М., Николенко Н.Н. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь как мультидисциплинарная патология. // Поликлиника. 2013. № 4. С. 88-96.
57. Приворотский В.Ф., Луппова Н.Е., Герасимова Т.А., Орлов А.В. Романюк Ф.П., Антонова Е.А. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) у детей. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2011.№ 1. С.14-21.
58. Приворотский В.Ф., Луппова Н.Е. Проект рабочего протокола диагностики и лечения. ГЭРБ у детей. Материалы Юбилейного XX Конгресса детских гастроэнтерологов России. - 2013. С. 256-274.
59. Приворотский В.Ф., Лупова Н.Е., Бельмер С.В., Апенченко Ю.С., Басалаева Н.В. , Гурова М.М., Звягин А.А., Камалова А.А., Корниенко Е.А., Мызин А.В., Герасимова Н.В., Моисеев А.Б., Нижевич А.А., Печкуров Д.В. Семин С.Г., Ситникова Е.А., Дублина Е.С., Хавкин А.И., Щербаков П.Л., Эрдес С.И. Рабочий протокол диагностики и лечения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. // Детская больница. 2014& № 1. С. 54-61.
60. Рапопорт С. И. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь. (Пособие для врачей). М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М». 2009. 12 с. ISBN 978-5-98803-157-4.
61. РГА. Диагностика и лечение гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Пособие для врачей. - Москва. - 2010 г.
62. Семенюк Л.А., Санникова Н.Е. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь и Нр-ассоциированный хронический гастрит у детей и подростков

- // Материалы XIII конгресса детских гастроэнтерологов России. М., 2006.
63. Старостин Б. Д. Пищевод Баррета: выявления, мониторинг, лечение. // РЖГГК. 2003. С. 84-90.
64. Талалаев А.Г., Туманова Е.Л., Тертычный А.С. Современные требования к обработке и изучению материала биопсий желудочно-кишечного тракта у детей. // Вопросы детской диетологии. 2008. Т. 6. № 2. С. 63.
65. Тарасова Г.Н., Андреева Н.А. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: ключевые звенья патогенеза и перспективы лечения. С. 1-8.
66. Томилович Д.И., Витенас А.М. Болезни пищевода и кардии. М.' 1986.
67. Троян В.В. Патогенез гастроэзофагеальной рефлюксной болезни// БМЖ. - 2004; 2 (8)
68. Трухманов А.С. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: клинические варианты, прогноз, лечение: автореф. дис.... докт. мед. наук. Москва. 2008. 41 с.
69. Цирдава Г.Ю., Лукьянова Г.М., Клецкин А.Э., Обрядов В.П., Рожденкин Е.А. Оперативное лечение гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. // Новости хирургии. 2012. Т. 20. № 3. С. 55-59.
70. Цирдава Г.Ю., Лукьянова Г.М., Шеляхин В.Е. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у детей и ее хирургическое лечение. // Медицинский альманах. 2008. № 2. С. 81-84.
71. Шаробаро В.И.. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь. Учебное пособие.
72. Щербаков П.Л., Лобанов Ю.Ф. Детская гастроэнтерология - настоящее и будущее. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2011. № 1. С. 3-8.
73. Щербаков П.Л., Кирова М.В., Хомерики С.Г., Васнев О.С., Ким Д.О. Пищевод Барретта // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2012. №8. С. 62 – 70.
74. Щербаков П.Л., Быстровская Е.В., Кирова М.В., Васильев Ю.В. Эндоскопическое исследование пищевода (глава в монографии С.65–83) // «Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь» под ред. Л.Б. Лазебника. – Монография. – М.: ИД «Медпрактика-М», 2012. – 355 с.
75. Allende DS, Yerian LM. Diagnosing gastroesophageal reflux disease: the

- pathologist's perspective. *Adv Anat Pathol*. 2009 May;16(3):161-5.
76. Al Yassin TM, Toner PG. Langerhans cells in the human oesophagus. *J Anat*. 1976; 122:435–445.
 77. Anders M., Lucks Y. et al. Subsquamous Extension of Intestinal Metaplasia Is Detected in 98% of Cases of Neoplastic Barrett's Esophagus. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2014;12:405–410.
 78. Barrett N.R. Chronic peptic ulcer of the oesophagus and 'oesophagitis', *Br. J. Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2014;12:405–410.
 - Surg. 38 (1950) 175–182.
 79. Borrelli O, Battaglia M, Galos F, et al. Non-acid gastro-oesophageal reflux in children with suspected pulmonary aspiration. *Digestive and Liver Disease* 2010;42:115–21.
 80. Borrelli O, Marabotto C, Mancini V, et al. Role of gastro-esophageal reflux in children with unexplained chronic cough. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2011;53:287–92.
 81. Calabrese C, Montanaro L, Liguori G, Brighenti E, Vici M, Gionchetti P, Rizzello F, Campieri M, Derenzini M, Trerè D. Cell proliferation of esophageal squamous epithelium in erosive and non-erosive reflux disease. *World J Gastroenterol*. 2011 Oct 28;17(40):4496-502.
 82. Campanozzi A., Boccia G., Pensabene L. et al. Prevalence and natural history of gastroesophageal reflux: Pediatric prospective survey // *Pediatrics*. 2009. Vol. 3, N 123. – P. 779–783.
 83. Carr JS, Zafar SF, Saba N, Khuri FR, El-Rayes BF. Risk Factors for Rising Incidence of Esophageal and Gastric Cardia Adenocarcinoma. *J Gastrointest Cancer*. 2013 Feb 26. [Epub ahead of print].
 84. Chandrasoma P. T., Der R., Ma Y. et al. Histology of the gastroesophageal junction: an autopsy study. // *Am. J. Surg. Pathol*. 2000. Vol. 24. P. 402—409.
 85. Chandrasoma P. T., Der R., Dalton P. et al. Distribution and significance of epithelial types in columnar-lined esophagus.// *Am. J. Surg. Pathol*. 2001. Vol. 25. P. 1188—1193.
 86. Chandrasoma P., Wijetunge S., DeMeester S. et al. Columnar-lined esophagus without intestinal metaplasia has no proven risk of adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2012;36:1-7.

87. Chandrasoma P., Wijetunge S, Ma Y., Demeester S., Hagen J., Demeester T. 2011. The dilated distal esophagus: a new entity that is the pathologic basis of early gastroesophageal reflux disease. *Am J Surg Pathol* 35:1873–1881. doi: 10.1097/PAS.0b013e31822b78e8.
88. Chandrasoma P., Wijetunge S., Demeester S.R., Hagen J., Demeester T.R. The histologic squamo-oxynitic gap: an accurate and reproducible diagnostic marker of gastroesophageal reflux disease. *Am J Surg Pathol*. 2010 Nov;34(11):1574-81.
89. Chang AB, Connor FL, Petsky HL, et al. An objective study of acid reflux and cough in children using an ambulatory pHmetry-cough logger. *Arch Dis Child*. 2011;96(5):468–472.
90. Chang Y., Liu B., Liu G-S., Wang T., Gong J. Short-segment Barrett's esophagus and cardia intestinal metaplasia: A comparative analysis. *World J Gastroenterol* 2010 December 28; 16(48): 6151-6154.
91. Chen C.-L., Hsu P.-I . Current Advances in the Diagnosis and Treatment of Nonerosive Reflux Disease. *Gastroenterology Research and Practice*. Volume 2013, Article ID 653989, 8 pages.
92. Chitkara D.K., Talley N.J., Weaver A.L. et al. Incidence of presentation of common functional gastrointestinal disorders in children from birth to 5 years: A cohort study // *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. 2007. Vol. 5, N 2. P. 186–191.
93. Cohen M.C., Ashok D, Gell M, Bishop J, Walker J, Thomson M, Al-Adnani M. Pediatric columnar lined esophagus vs Barrett's esophagus: is it the time for a consensus definition. // *Pediatr Dev Pathol*. 2009 Mar-Apr;12(2):116-26. doi: 10.2350/08-03-0436.1. Epub 2008 Nov 13. PubMed PMID: 18684017.7
94. Cohen M.C., Maltby E.L. Recent Developments in Understanding Paediatric Barrett's Oesophagus. *The Open Pathology Journal*, 2010, 4, 60-66.
95. Conchillo JM, Schwartz MP, Selimah M, et al. Acid and non-acid reflux patterns in patients with erosive esophagitis and non-erosive reflux disease (NERD): a study using intraluminal impedance monitoring. *Digestive Diseases and Sciences* 2008;53:1506–12.
96. Costa A.J.F., Silva G.A.P. et al. Prevalence of pathologic gastroesophageal reflux In regurgitant infants // *J. de Pediatria (Brazil)*. 2004. Vol. 4, N 80. P. 115–120.
97. Cui R1, Zhang H, Zhou L, Lu J, Xue Y, Wang Y, Yan X, Lin L, Lin S. Diagnostic

value of dilated intercellular space and histopathologic scores in gastroesophageal reflux disease. *Dis Esophagus*. 2014 Aug 18. doi: 10.1111/dote.12256.

- 98 .Dahms BB. Reflux esophagitis: sequelae and differential diagnosis in infants and children including eosinophilic esophagitis.*Pediatr Dev Pathol*. 2004 Jan-Feb; 7(1):5-16.
99. Data from a Prospective Central European Multicenter Study on histologic and endoscopic diagnosis of esophagitis (histoGERD).Short Title: Cardiac Mucosa at the GEJ.
100. De Hertogh G., Van Eyken P., Ectors N. et al. // *Gut*. 2003. Vol. 52. P. 791-796
J.J., Bergwerk A., Cohen H. et al. // *AM. J. Surg. Pathol*. 2003. Vol. 27.
P. 499-504.
101. De S., Rajeshwari K., Kalra K.K. et al. Gastroesophageal reflux in infants and children in North India // *Trop Gastroenterol*. – 2001. Vol. 22. P. 99–102.
Ellison E., Hassall E., Dimmick J.E. // *Pediatr. Pathol. Lab. Med*. 1996. Vol. 16.
P. 195-206.
102. El-Serag H.B., Graham D.Y, Rabeneck L, Avid A, Richardson P, Genta RM.
Prevalence and determinants of histological abnormalities of the gastric cardia in volunteers. // *Scand J Gastroenterol*. 2007 Oct;42(10):1158-66.
103. Fedorak RN, Veldhuyzen van Zanten S, Bridges R. "Canadian Digestive Health Foundation Public Impact Series: Gastroesophageal reflux disease in Canada: Incidence, prevalence, and direct and indirect economic impact". *Canadian Journal of Gastroenterology* (July 2010) 24 (7): 431–4.
104. Fiocca R. et al. Microscopic esophagitis and Barrett's esophagus: The histology report. *Digestive and Liver Disease* 43S (2011) S319–S330.
105. Fiocca R, Mastracci L, Riddell R, et al. Development of consensus guidelines or the histologic recognition of microscopic esophagitis in patients with gastro-esophageal reflux disease: the Esohisto project. *Hum Pathol*. 2010; 41:223–31.
106. Gatenby PA, Ramus JR, Caygill CP, Shepherd NA, Watson A. Relevance of the detection of intestinal metaplasia in non-dysplastic columnar-lined oesophagus. *Scand J Gastroenterol*. 2008;43(5):524–530.
107. Geboes K, De Wolf-Peeters C, Rutgeerts P, Janssens J, Vantrappen G, Desmet V. Lymphocytes and Langerhans cells in the human oesophageal ep

- ithelium.// Virchows Arch A. 1983;401:45–55.
108. Gilger M.A., El-Serag H.B., Gold B.D. et al. Prevalence of endoscopic findings of erosive esophagitis in children: a population-based study // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2008. Vol. 47. P. 141–146.
 109. Glickman J.N., Fox V., Antonioli D.A. et al. // Am. J. Surg. Pathol. 2002. Vol. P. 1032—1039.
 110. Grotenhuis, B.A., W.N. Dinjens, B.P. Wijnhoven, et al. 2010. Barrett's oesophageal adenocarcinoma encompasses tumour-initiating cells that do not express common cancer stem cell markers. J. Pathol. 221: 379–389.
 111. Gunasekaran T.S., Dahlberg M., Ramesh P., Namachivayam G. Prevalence and associated features of gastroesophageal reflux symptoms in a Caucasian-predominant adolescent school population // Dig. Dis. Sci. 2008. Vol. 53, N 9. P. 2373–2379.
 112. Gupta S.K., Hassall E., Chiu Y.L. et al. Presenting symptoms of nonerosive and erosive esophagitis in pediatrics patients // Dig. Dis. Sci. 2006. Vol. 51, N 5. P. 858–863.
 113. Guarino MP, Cheng L, Ma J, et al. Increased TRPV1 gene expression in esophageal mucosa of patients with non-erosive and erosive reflux disease. Neurogastroenterology and Motility 2010;22:746–51.
 114. Hahn HP, Blount PL, Ayub K, et al. Intestinal differentiation in metaplastic, nongoblet columnar epithelium in the esophagus. Am J Surg Pathol 2009 [Epub ahead of print].
 115. Hassall E. Esophagitis and Barrett Esophagus: Unifying the Definitions and Diagnostic Approaches, With Special Reference to Esophageal Atresia. JPGN Vol. 52, Supplement 1, May 2011. 23-26.
 116. Hassall E. Barrett's esophagus: new definitions and approaches in children // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 1993. Vol. 16. P. 345–364.
 117. Hassall E., Dimmick J.E., Magee J.F. Adenocarcinoma in childhood Barrett's esophagus: case documentation and the need for surveillance in children // Am. J. Gastroenterol. 1993. Vol. 88, N 2. P. 282–288.
 118. Hershcovici T, Fass R. "Pharmacological management of GERD: where does it stand now?". Trends in pharmacological sciences (April 2011) 32 (4): 258–64.
 119. Hershcovici T., Fass R. Nonerosive Reflux Disease (NERD) - An Update.

- J. Neurogastroenterol Motil, Vol. 16 No. 1 January, 2010 (8-21).J
120. Jovov B, Que J, Tobey NA, Djukic Z, Hogan BL, Orlando RC. Role of E-cadherin in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol*. 2011 Jun;106(6):1039-47
 121. Jung H.K. Epidemiology of gastroesophageal reflux disease in Asia: a systematic review. *J Neurogastroenterol Motil*. 2011;17(1):14–27
 122. Jung WJ, Yang HJ, Min TK, et al. The efficacy of the upright position on gastroesophageal reflux and reflux-related respiratory symptoms in infants with chronic respiratory symptoms. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2012;4(1):17–23.
 123. Kahrilas P.J. The Problems with Surveillance of Barrett’s Esophagus. *N. Engl. J. Med* 365;15 NEJM.ORG october 13, 2011.
 124. Kandulski A, Jechorek D, Caro C, Weigt J, Wex T, Mönkemüller K, Malfertheiner P. Histomorphological differentiation of non-erosive reflux disease and functional heartburn in patients with PPI-refractory heartburn. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013 Sep;38(6):643-51.
 125. Kim JW. Role of Ultrastructural Alterations of Intercellular Junction and Tight-junction Proteins in Patients With Gastroesophageal Reflux Disease. *J Neurogastroenterol Motil*. 2013 Oct;19(4):547-8.
 126. Katz PO, Gerson LB, Vela MF (2013) Guidelines for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 108:308 – 328. doi:10.1038/ajg. 2012. 444 .
 127. Kilgore S.P., Ormsby A.H., Gramlich T.L. et al. // *Am. J. Gastroenterology*. 2000. Vol. 95. P. 921—924.
 128. Langner C, Wolf EM, Plieschnegger W, Geppert M, Wigglinghaus B, Höss GM, Eherer A, Schneider NI, Rehak P, Vieth M. Multilayered epithelium at the gastroesophageal junction is a marker of gastroesophageal reflux disease: data from a prospective Central European multicenter study (histoGERD trial). *Virchows Arch*. 2014 Apr;464(4):409-17.
 129. Langner C, Nora I Schneider,¹ Wolfgang Plieschnegger,² Bertram Schmack,³ Hartmut Bordel,⁴ Bernd Höfler,⁵ Andreas J Eherer,⁶ Eva-Maria Wolf,¹ Peter Rehak,⁷ and Michael Vieth⁸ Cardiac mucosa at the Gastroesophageal Junction: Indicator of Gastroesophageal Reflux Disease?
 130. Lightdale JR, Gremse DA; Gastroesophageal reflux: management guidance for

- the pediatrician. *Pediatrics*. 2013 May;131(5):e1684-95.
131. Liu CC1, Lee JW, Liu TT, Yi CH, Chen CL. Relevance of ultrastructural alterations of intercellular junction morphology in inflamed human esophagus. *J Neurogastroenterol Motil*. 2013 Jul;19(3):324-31.
 132. Liu W, Hahn H, Odze RD, et al. Metaplastic esophageal columnar epithelium without goblet cells shows DNA content abnormalities similar to goblet cell-containing epithelium. *Am J Gastroenterol* 2009;104:816–24.
 133. Maguire A, Sheahan K. Pathology of oesophagitis. *Histopathology*. 2012 May;60(6):864-79
 134. Mahajan L., Wyllie R., Oliva L. et al. Reproducibility of 24-hour intraesophageal pH monitoring in pediatric patients // *Pediatrics*. 1998. Vol. 101. P. 260– 263.
 135. Mancini V., Ribolsi M., Gentile M., de'Angelis G., Bizzarri D., Lindley, K.J., Cucchiara S., Cicala M., Borrelli O. Oesophageal mucosal intercellular space diameter and reflux pattern in childhood erosive and non-erosive reflux disease. *Digestive and Liver Disease*. 44 (2012) 981-987.
 136. Martin A.J., Pratt N., Kennedy J.D. et al. Natural history and familial relationships of infant spilling to 9 years of age // *Pediatrics*. 2002. Vol. 109. P. 1061.
 137. Mastracci L, Spaggiari P, Grillo F, et al. Microscopic esophagitis in gastroesophageal reflux disease: individual lesions, biopsy sampling, and clinical correlations. *Virchows Archiv* 2009;454:31–9.
 138. Miwa H, Takubo K, Shimatani T, Furuta T, Oshima T, Tanaka J, Aida J, Ito M, Kurosawa S, Joh T, Wada T, Habu Y, Watanabe Y, Hongo M, Chiba T, Kinoshita Y; Aid-Related Symptom Research Group. Histology of symptomatic gastroesophageal reflux disease: is it predictive of response to proton pump inhibitors? *J . Gastroenterol Hepatol*. 2013 Mar;28(3):479-87.
 139. Miyazawa R., Tomomasa T., Kaneko H. et al. Prevalence of gastroesophageal reflux-related symptoms in Japanese infants // *Pediatr. Int*. 2002. Vol. 44. P. 513– 516.
 140. Mönkemüller K1, Wex T, Kuester D, Fry LC, Kandulski A, Kropf S, Roessner A, Malfertheiner P. Role of tight junction proteins in gastroesophageal reflux disease. *BMC Gastroenterol*. 2012 Sep 20;12:128.
 141. Nelson S.P., Chen E.H., Syniar G.M. et al. One-year follow-up of symptoms of

- gastroesophageal reflux during infancy. Pediatric Practice Research Group // Pediatrics. 1998. Vol. 102. P. 67.
142. Nelson S.P., Chen E.H., Syniar G.M. et al. Prevalence of symptoms of gastroesophageal reflux during infancy. A pediatric practice-based survey. Pediatric Practice Research Group // Arch. Pediatr. Adolesc. Med. 1997. Vol. 151. P. 569–572.
 143. Nguyen DM, El-Serag HB, Shub M. et al BE in children and adolescents without neurodevelopmental or tracheoesophageal abnormalities.// Gastrointest Endosc. 2011. Vol 73. No. 5. p. 875-80.
 144. Oberg S. , Peters JH, DeMeester TR, Chandrasoma P, Hagen JA, Ireland AP, Ritter MP, Mason RJ, Crookes P, Bremner CG. Inflammation and specialized intestinal metaplasia of cardiac mucosa is a manifestation of gastroesophageal reflux disease. Ann Surg. 1997 Oct;226(4):522-30.
 145. Odze RD. Pathology of the gastroesophageal junction. Semin Diagn Pathol. 2005 Oct;22(4) : 256-65.
 146. Oksanen A, Sipponen P, Karttunen R, Rautelin H. Inflammation and intestinal metaplasia at the squamocolumnar junction in young patients with or without Helicobacter pylori infection. Gut. 2003 Feb;52(2):194-8.
 147. Orenstein S.R., Cohn J.F., Shalaby T.M., Kartan R. Reliability and validity of an infant gastroesophageal reflux questionnaire // Clin. Pediatr. (Phila). 1993. Vol. 32. P. 472–484.
 148. Orenstein S.R., Izadnia F., Khan S. Gastroesophageal reflux disease in children // Gastroenterol. Clin. North Am. 1999. Vol. 28. P. 947–969.
 149. Orenstein S.R., Shalaby T.M., Cohn J.F. Reflux symptoms in 100 normal infants: diagnostic validity of the infant gastroesophageal reflux questionnaire // Clin. Pediatr. (Phila). 1996. Vol. 35. – P. 607–614.
 150. Osatakul S., Sriplung H., Puetpaiboon A. et al. Prevalence and natural course of gastroesophageal reflux symptoms: a 1-year cohort study in Thai infants // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2002. Vol. 34. P. 63– 67.
 151. Owen DA. Gastritis and carditis. //Mod. Pathol. 2003 Apr;16(4):325-41.
 152. Park Y.S., Park H.J., Kang G.H. et al. // Arch. Pathol. Lab. Med. 2003. Vol. 127. 451—455.
 153. Park Y.S. et all. Histology of gastroesophageal junction in fetal and pediatric

- autopsy // Arch. Patol. Lab. Med. 2003. V 127. P. 451-5.
154. Peters, J.H. & N. Avisar. The molecular pathogenesis of Barrett's esophagus: common signaling pathways in embryogenesis, metaplasia and neoplasia. J. Gastrointest. Surg. 2010. (Suppl 1): S81–S87.
 155. Petersson F, Franzén LE, Borch K. Characterization of the gastric cardia in volunteers from the general population. Type of mucosa, Helicobacter pylori infection, inflammation, mucosal proliferative activity, p53 and p21 expression, and relations to gastritis. // Dig Dis Sci. 2010 Jan;55(1):46-53.
 156. Quante M., Bhagat G., Abrams J.A., et al. Bile acid and inflammation activate gastric cardia stem cells in a mouse model of Barrett-like metaplasia. Cancer Cell 2012; 21:36–51.
 157. Quante M., Abrams J.A., Lee Y., et al. Barrett's esophagus: what a mouse model can teach us about human disease. Cell Cycle 2012; 11:4328–4338.
 158. Quitadamo P, Di Nardo G, Miele E, Campione S, Mancusi V, Oliva S, Rossi P, Tiberti A, Staiano A, D'Armiento M. Gastro-Esophageal Reflux in Young Children and Adolescents: Is There a Relationship between Symptom Severity and Esophageal Histological Grade? J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014 Nov 3. [Epub ahead of print]
 159. Rasquin-Weber A., Hyman P.E., Cucchiara S. et al. Childhood functional gastrointestinal disorders // Gut. – 1999. – Vol. 45, N 2. – P. 60–68.
 160. Ravelli AM, Villanacci V, Ruzzenenti N, Grigolato P, Tobanelli P, Klersy C, Rindi G. Dilated intercellular spaces: a major morphological feature of esophagitis. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2006 May;42(5):510-5.
 161. Ribolsi M, Perrone G, Caviglia R, et al. Intercellular space diameters of the oesophageal epithelium in NERD patients: head to head comparison between light and electron microscopy analysis. Digestive and Liver Disease 2009; 41:9–14.
 162. Riddell RH, Odze RD. Definition of Barrett's esophagus: time for a rethink – is intestinal metaplasia dead? Am J Gastroenterol . 2009; 104:2588–94.
 163. Robertson EV, Derakhshan MH, Wirz AA, Lee YY, Seenan JP, Ballantyne SA, Hanvey SL, Kelman AW, Going JJ, McColl KE. Central obesity in asymptomatic volunteers is associated with increased intrasphincteric Acid reflux and lengthening of the cardiac mucosa. Gastroenterology. 2013 Oct;145(4):730-9.

164. Rubenstein JH, Chen JW. Epidemiology of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2014 Mar;43(1):1-14
165. Rudolph C.D., Mazur L.J., Liptak G.S. et al. Guidelines for evaluation and treatment of gastroesophageal reflux in infants and children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2001. – Vol. 32, N 2. – P. 1.
166. Salvatore S., Hauser B., Vandemaele K., Vandenplas Y. Gastroesophageal reflux disease in infants: how much is predictable with questionnaires, pH-metry, endoscopy and histology? // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2005. Vol. 40, N 2. P. 210–215.
167. Savarino E, Tutuian R, Zentilin P, et al. Characteristics of reflux episodes and symptom association in patients with erosive esophagitis and nonerosive reflux disease: study using combined impedance-pH off therapy. *American Journal of Gastroenterology.* 2010;105:1053–61.
168. Savarino E, Zentilin P, Mastracci L, Dulbecco P, Marabotto E, Gemignani L, Bruzzzone L, de Bortoli N, Frigo AC, Fiocca R, Savarino V. Microscopic esophagitis distinguishes patients with non-erosive reflux disease from those with functional heartburn. *J Gastroenterol.* 2013 Apr;48(4):473-82.
169. Savarino E, Gemignani L, Pohl D, et al. Oesophageal motility and bolus transit abnormalities increase in parallel with the severity of gastrooesophageal reflux disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2011;34: 476–86.
170. Shaheen N., Ransohoff D.F. Gastroesophageal reflux, barrett esophagus, and esophageal cancer: scientific review // *JAMA.* 2002. Vol. 287, N 15. P. 1972–1981.
171. Sharma P. Barrett's Esophagus. *N Engl J Med* 2009; 361: 2548—2556.
172. Sherman PM, Hassall E, Fagundes-Neto U, et al. A global, evidence- based consensus on the definition of gastroesophageal reflux disease in the pediatric population. *Am J Gastroenterol* 2009;104:1278-95.
173. Schneider NI, Plieschnegger W, Geppert M, Wigglinghaus B, Hoess GM, Eherer A, Wolf EM, Rehak P, Vieth M, Langner C. Validation study of the Esohisto consensus guidelines for the recognition of microscopic esophagitis (histoGERD Trial). *Hum Pathol.* 2014 May;45(5):994-1002.
174. Spechler S.J., Sharma P., Souza R.F., Inadomi J.M., Shaheen N.J. American

- Gastroenterological Association Technical Review on the Management of Barrett's Esophagus. *Gastroenterology*. Author manuscript; available in PMC 2012 March 1. 1-53.
175. Spechler S.H., Sharma P., Souza R. et al. American Gastroenterological Association Medical Position Statement on the Management of Barrett's Esophagus. *Gastroenterology* 2011; 140 (3): 1084—1091.
 176. Takubo Kaiyo. *Pathology of the Esophagus 2nd Edition An Atlas and Textbook* Springer 2007 343p.
 177. Toghanian S., Johnson D.A., Stålhammar N.O., Zerbib F. Burden of gastroesophageal reflux disease in patients with persistent and intense symptoms despite proton pump inhibitor therapy: A post hoc analysis of the 2007 national health and wellness survey. *Clin. Drug. Investig.* 2011; 31:703-715.
 178. Tolia V., Wuerth A., Thomas R. Gastroesophageal reflux disease: review of presenting symptoms, evaluation, management and outcome in infants // *Dig. Dis. Sci.* 2003.— Vol. 9, N 48. P. 1723—1729.
 179. Tytgat G.N. Recent developments in gastroesophageal reflux disease and Barrett's esophagus: ANNO 2012. *J Dig Dis.* 2012; 13:291-295.
 180. Upton M., Pai R., Vieth M., Neumann H. Esophageal disease and pathology. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1232 (2011) 376—380.
 181. Vakil N. Disease definition, clinical manifestations, epidemiology and natural history of GERD. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010;24:759-764.
 182. Vakil N., van Zanten S.V., Kahrilas P. et al. Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus // *Am. J. Gastroenterol.* 2006. Vol. 101. N 8. P. 1900—1920.
 183. Vandenplas Y., Hassall E. Mechanisms of gastroesophageal reflux and gastroesophageal reflux disease // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2002. Vol. 35. — P. 119—136.
 184. van Malenstein H., Farré R., Sifrim D. Esophageal dilated intercellular spaces (DIS) and nonerosive reflux disease. *American Journal of Gastroenterology* 2008; 103:1021—8.
 185. Vieth M., Langer C., Neumann H., Takubo K. Barrett's esophagus. Practical issues for daily routine diagnosis.// *Patology - Research and*

- practice 208 (2012) 261-268.
186. Volonaki E., Sebire N.J., Borrelli O., et al. Gastrointestinal endoscopy and mucosal biopsy in the first year of life: indications and outcome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;55(1):62–65 .
 188. Voutilainen M, Färkkilä M, Mecklin JP, Juhola M, Sipponen P. Chronic inflammation at the gastroesophageal junction (carditis) appears to be a specific finding related to *Helicobacter pylori* infection and gastroesophageal reflux disease. The Central Finland Endoscopy Study Group. *Am J Gastroenterol.* 1999 Nov; 94 (11):3175-80.
 188. Wang KK, Sampliner RE, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol.* 2008; 103:788–797. [PubMed: 18341497]
 189. Wani S. et al. Patients With Nondysplastic Barrett's Esophagus Have Low Risks for Developing Dysplasia or Esophageal Adenocarcinoma. *Clinical gastroenterology and hepatology* . 2011; 9:220–227.
 190. Westerhoff M., Hovan L., Lee C., and Hart J. Effects of Dropping the Requirement for Goblet Cells From the Diagnosis of Barrett's Esophagus. *Clinical gastroenterology and hepatology.* 2012 10:1232–1236.
 191. Wex T1, Mönkemüller K, Stahr A, Kuester D, Fry LC, Völkel S, Kandulski A, Roessner A, Malfertheiner P. Gastro-oesophageal reflux disease is associated with up-regulation of desmosomal
 192. W Krugmann J, Neumann H, Vieth M, Armstrong D. What is the role of endoscopy and oesophageal biopsies in the management of GERD? *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2013 Jun;27(3):373-85.
 193. Yerian L, Fiocca R, Mastracci L, Riddell R, Vieth M, Sharma P, Franzen S, Fernstrom P, Ruth M. Refinement and reproducibility of histologic criteria for the assessment of microscopic lesions in patients with gastroesophageal reflux disease: the Esohisto Project. *Dig Dis Sci.* 2011 Sep;56(9):2656-65.
 194. Yantiss R.K. Diagnostic Challenges in the Pathologic Evaluation of Barrett Esophagus. *Arch Pathol Lab Med—Vol 134, November 2010.* 1589 - 1600.
 195. Yousef F, Cardwell C, Cantwell MM, et al. The incidence of esophageal cancer and high-grade dysplasia in Barrett's esophagus: a systematic review and meta-

- analysis. *Am J Epidemiol.* 2008; 168:237–249. [PubMed: 18550563].
196. Zentilin P, Savarino V, Mastracci L, Spaggiari P, Dulbecco P, Ceppa P, Savarino E, Parodi A, Mansi C, Fiocca R (2005) Reassessment of the diagnostic value of histology in patients with GERD, using multiple biopsy sites and an appropriate control group. *Am J Gastroenterol* 100:2299–2306 .
197. Zavala W.D., De Simone D.S., Sacerdote F.L., Cavicchia J.C. Variation in Langerhans cell number and morphology between the upper and lower regions of the human esophageal epithelium. // *Anat Rec.* 2002. Dec 1; 268(4):360-364.