

На правах рукописи

РУМЯНЦЕВА

Диана Евгеньевна

**Клинико - морфологические характеристики рецидивов
гастроэзофагеальной рефлюксной болезни**

14.01.04 Внутренние болезни

Автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата
медицинских наук

Москва 2020

Работа выполнена в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный
медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский
Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Трухманов Александр Сергеевич

Официальные оппоненты:

Булгаков Сергей Александрович доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ
ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им.
Н.И. Пирогова» Минздрава России, кафедра гастроэнтерологии факультета
дополнительного профессионального образования (ФДПО), профессор кафедры

Самсонов Алексей Андреевич доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО
«Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.
Евдокимова» Минздрава России, кафедра пропедевтики внутренних болезней и
гастроэнтерологии, профессор кафедры

Ведущая организация: ГБУЗ Московской области "Московский областной
научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского"

Защита состоится «___»_____2020 года в ___ часов на заседании
диссертационного совета Д.208.040.13 при ФГАОУ ВО Первый Московский
государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава
России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.
8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый
МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по
адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте www.sechenov.ru.

Автореферат разослан «___»_____2019 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук, профессор

Дроздов Владимир Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) занимает лидирующие позиции среди заболеваний желудочно - кишечного тракта, достигая распространенности 18 - 46% в Российской Федерации (Ивашкин В.Т., 2017). В развитых странах 20 - 40% населения страдают изжогой - основным симптомом ГЭРБ. Актуальность ГЭРБ определяется не только ее широкой распространенностью, но также риском возникновения осложнений (кровотечения из язв и эрозий, развитие пептических стриктур, пищевода Баррета, являющегося фоном для развития аденокарциномы пищевода), снижением качества жизни пациентов (Ивашкин В.Т., 2002).

Несмотря на то, что появляются новые методы диагностики и совершенствуются методы лечения, у части больных наблюдается рефрактерность к проводимому лечению, а после отмены препаратов возникает рецидив заболевания, считающийся основным фактором риска развития пищевода Баррета. По мнению некоторых авторов, частота рецидивирования клинических проявлений ГЭРБ в первые шесть месяцев после проведенной терапии достигает 50 - 100% (Carlsson R., 1997; Jaspersen D., 1998; Plein K., 2000; Vakil NB., 2001).

Следует отметить, что до настоящего времени в литературе практически не встречаются сведения об особенностях клинических, эндоскопических, морфологических и функциональных проявлений ГЭРБ при ее рецидивировании. Это аспекты обуславливают актуальность нашего исследования, позволяя в дальнейшем как оптимизировать методы диагностики, так и индивидуализировать терапию.

В последнее время все больший интерес ученых привлекает изучение микробиома человека и его роль в развитии различных заболеваний. Появление новых молекулярно – генетических методов исследования, в том числе полимеразной цепной реакции 16S рибосомальной РНК (рРНК) (Кардымон О.Л., 2016), позволило обнаружить микроорганизмы, которые ранее не удавалось идентифицировать культуральным методом. Лишь немногочисленные

исследования посвящены изучению микробиоты пищевода при ГЭРБ, пищеводе Баррета, аденокарциноме пищевода. Таким образом, изучение микробиоты пищевода и желудка у больных с рецидивом ГЭРБ, а также ее изменение при лечении ИПП и пробиотиками является весьма актуальной и недостаточно изученной проблемой.

Цель исследования

Изучить клинические, эндоскопические, морфологические, функциональные особенности у больных с рецидивом гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и исследовать микробиоту пищевода и желудка до и после лечения ингибиторами протонной помпы и пробиотиками.

Задачи исследования

1. Изучить особенности клинической картины у пациентов с рецидивом ГЭРБ.
2. Выявить особенности эндоскопической картины у пациентов с рецидивом ГЭРБ.
3. Изучить морфологическую картину слизистой оболочки пищевода при рецидивировании ГЭРБ.
4. Выяснить особенности двигательной функции пищевода у пациентов с рецидивом ГЭРБ.
5. Изучить физико - химические особенности рефлюктата при рецидивировании ГЭРБ.
6. Исследовать микробиоту пищевода у пациентов с ГЭРБ.
7. Изучить влияние терапии ингибиторами протонной помпы и пробиотиками на состав микробиоты пищевода.
8. Исследовать микробиоту желудка у пациентов, страдающих ГЭРБ.
9. Изучить влияние ингибиторов протонной помпы и пробиотиков на состав микробиоты желудка.

Научная новизна

Впервые изучены особенности двигательных нарушений пищевода, приводящих к рецидивированию ГЭРБ, физико- химических свойств рефлюктата,

а также особенности морфологической картины, клинических, эндоскопических проявлений рецидивов ГЭРБ.

Впервые исследована микробиота пищевода и желудка у пациентов с рецидивом ГЭРБ. В рамках данной диссертационной работы впервые было исследовано влияние ингибиторов протонной помпы и пробиотиков на состав микробиоты пищевода и желудка.

Научно-практическая значимость работы

Проведенное нами исследование позволило выявить клинические, эндоскопические, морфологические и функциональные особенности у больных с рецидивом ГЭРБ. Установлены факторы, приводящие к рецидивированию заболевания, которые необходимо учитывать при подборе персонализированной терапии для более длительного поддержания клинической и эндоскопической ремиссии у пациентов с ГЭРБ. Внесен важный вклад в современное понимание роли микробиоты пищевода у больных с ГЭРБ, что позволит в дальнейшем выявить новые звенья патогенеза заболевания и методы воздействия на них.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования нашли практическое применение в лечебном процессе гастроэнтерологического отделения Университетской клинической больницы №2 Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Положения, выносимые на защиту

1. Пациенты с рецидивирующим течением ГЭРБ по сравнению с пациентами с впервые выявленной ГЭРБ имеют более частую и интенсивную изжогу, нарушающую повседневную активность и возникающую в том числе в ночное время, более высокую частоту горечи во рту, тяжести в эпигастральной области, вздутия живота, чаще наблюдается избыточная масса тела.

2. Больные с рецидивирующим течением ГЭРБ и впервые выявленной ГЭРБ не различаются между собой по степени рефлюкс-эзофагита, устанавливаемой при эндоскопическом исследовании. При морфологическом исследовании биоптатов

слизистой оболочки пищевода у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ по сравнению с пациентами с впервые выявленной ГЭРБ обнаруживается большее количество моноклеарных элементов в эпителии и чаще отмечается увеличение длины соединительнотканых сосочков.

3. У больных с рецидивирующим течением ГЭРБ по сравнению с пациентами с впервые выявленной ГЭРБ по данным манометрии пищевода высокого разрешения обнаруживаются следующие изменения: снижение интенсивности сокращения дистального сегмента, в 2,5 раза более протяженный разрыв сокращения стенки пищевода, меньшее количество интактных (неизмененных) сокращений дистального сегмента пищевода, более частое выявление грыжи пищеводного отверстия диафрагмы.

4. У больных с рецидивирующим течением ГЭРБ по сравнению с пациентами с впервые выявленной ГЭРБ по данным 24 - часовой рН - импедансометрии выявляются увеличение процента времени с $\text{pH} < 4$ в пищеводе в течение суток, увеличение времени экспозиция болюса, более высокий индекс DeMeester, более длительные рефлюксы и большее число рефлюксов продолжительностью более 5 минут.

5. По данным секвенирования 16S рРНК основными типами бактерий в пищеводе и желудке у пациентов с рецидивирующим течением ГЭРБ и здоровых лиц являются Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria и Proteobacteria. У больных по сравнению со здоровыми отмечается уменьшение относительного содержания Proteobacteria как в пищеводе, так и в желудке.

6. У больных с рецидивирующим течением ГЭРБ число слабокислых рефлюксов коррелирует с уменьшением содержания Actinobacteria и увеличением Candidatus Saccharibacteria, число кислых рефлюксов в горизонтальном положении коррелирует с уменьшением содержания Proteobacteria, количество жидких рефлюксов - с увеличением содержания Bacteroidetes и уменьшением Firmicutes, увеличение 24- часовой экспозиции болюса в положении лежа - с повышением содержания Bacteroidetes.

7. Содержание в желудке бактерий типов Fusobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria и Proteobacteria не зависит от показателей pH. Повышение внутрижелудочного pH после еды коррелирует с увеличением относительного содержания Firmicutes.

8. Терапия ингибиторами протонной помпы в течение 8 недель приводит к повышению относительного содержания Proteobacteria в пищеводе и снижению содержания Bacteroidetes в желудке. Добавление к терапии ИПП комбинированного пробиотика (*Bifidobacterium bifidum* не менее 1×10^9 КОЕ; *Bifidobacterium longum* не менее 1×10^9 КОЕ; *Bifidobacterium infantis* не менее 1×10^9 КОЕ; *Lactobacillus rhamnosus* не менее 1×10^9 КОЕ) приводит к увеличению количества Proteobacteria и уменьшению содержания Firmicutes и Cyanobacteria в пищеводе, в то время как относительное содержание основных типов бактерий в желудке не изменяется.

Личный вклад автора

Все пациенты, включенные в исследование, были обследованы автором лично. Румянцева Д.Е. освоила методику проведения 24 - часовой pH-импедансометрии, забора пищеводной и желудочной слизи. Статистическая обработка полученных результатов была проведена автором лично.

Апробация работы

Апробация диссертационной работы была проведена на научной конференции кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 28 августа 2019 года.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на 25-ой Европейской Гастроэнтерологической Неделе (Барселона, 2017 г.), 26-ой Европейской Гастроэнтерологической Неделе (Вена, 2018 г.), XXII Российской объединенной гастроэнтерологической неделе (Москва, 2017 г.), XXIV объединенной гастроэнтерологической неделе (Москва, 2018 г.), конференции «Патофизиология, клиника и последствия нарушения микробиоты» (Москва, 2018 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

По своим материалам и методам, основным результатам исследования диссертационная работа полностью соответствует паспорту специальности 14.01.04 Внутренние болезни п. 2, 3, 4, 5.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 8 - в журналах, рекомендованных ВАК РФ и получен патент на полезную модель № 179203 с приоритетом от 08.12.16 (зонд для забора пищеводной и желудочной слизи №2016148249).

Объем и структура диссертации

Материалы диссертационной работы изложены на 162 страницах машинописного текста. Диссертация включает в себя: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, полученные собственные результаты и их обсуждение, выводы, а также практические рекомендации. Библиографический список представлен 148 источниками литературы, из которых 51 отечественных и 97 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 77 рисунками и 34 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Для решения поставленных задач клиническая часть работы была выполнена на базе клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) с сентября 2015 года по февраль 2017 года. В исследование были включены пациенты, страдающие ГЭРБ, проходившие амбулаторное или стационарное лечение.

Изучение микробиоты пищевода и желудка с помощью метода секвенирования 16S рРНК проводилось в ФГБУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН.

Все обследуемые были разделены на 2 группы: 1 группа – лица с рецидивом клинических проявлений ГЭРБ после проведенного лечения, 2 группа

(контрольная) – с впервые выявленной ГЭРБ. Кроме того, в исследовании приняли участие здоровые добровольцы мужского и женского пола с 18 до 65 лет, у которых не было жалоб, сопутствующих соматических заболеваний, изменений слизистой оболочки пищевода по данным ЭГДС.

Критерии включения в исследование: женщины и мужчины в возрасте от 18 до 69 лет, подписавшие письменное информированное согласие; наличие в анамнезе симптомов изжоги не менее 1 раза в неделю на протяжении 12 месяцев до скрининга; наличие рефлюкс - эзофагита по результатам проведённой ЭГДС; отрицательные результаты анализов крови на ВИЧ, сифилис и гепатиты В и С.

Критерии исключения из исследования: структурные аномалии и опухоли желудочно - кишечного тракта; варикозно-расширенные вены пищевода; пищевод Баррета, лекарственно-индуцированный эзофагит; первичные нарушения моторики пищевода или желудка; пептические язвы; хирургические вмешательства на пищеварительном тракте в анамнезе; тяжелые заболевания печени, почек, поджелудочной железы, кишечника; желчнокаменная болезнь; неврологические или психиатрические заболевания; системные заболевания; беременность, период грудного вскармливания; любое хирургическое вмешательство в течение 14 дней до включения в данное исследование; известные аллергические реакции на местные анестетики, ИПП и пробиотики; нарушения сердечного ритма, аневризма аорты, выраженные коагулопатии; заболевания, при которых противопоказана стимуляция блуждающего нерва; болезни полости носа, рта и глотки, препятствующие введению зондов; прием антибактериальных препаратов в течение последнего месяца до включения в исследование.

Всем пациентам, включенным в исследование проводились клинические (сбор жалоб, анамнеза, объективный осмотр), лабораторные (клинический и биохимический анализы крови), инструментальные (ЭГДС, манометрия пищевода высокого разрешения, 24 – часовая рН-импедансометрия) методы исследования.

38 больным было выполнено морфологическое исследование биоптатов слизистой оболочки пищевода.

У 14 пациентов с рецидивом ГЭРБ и 6 здоровых добровольцев была изучена полостная микробиота пищевода и желудка с помощью метода секвенирования 16S рРНК. Для забора пищеводной слизи и желудочного содержимого нами был спроектирован и изготовлен специальный зонд, на который получен Патент РФ на полезную модель № 179203 с приоритетом от 08.12.2016. Зонд состоит из семи каналов, располагающихся внутри силиконовой трубки длиной 90 см, и двух надувных баллонов ближе к дистальному концу. Два канала используются для раздувания баллонов, по два - для вливания растворов и аспирации содержимого из пищевода и желудка, и еще один – для аспирации слюны. Надувные баллоны расположены на расстоянии 80 мм друг от друга и при раздувании изолируют дистальный сегмент пищевода, препятствуя попаданию в него содержимого желудка и слюны.

Затем пациенты были разделены на две группы: первая в течение 8 недель получала ИПП в стандартной дозе, вторая - ИПП в комбинации с пробиотиком (*Bifidobacterium bifidum* не менее 1×10^9 КОЕ; *Bifidobacterium longum* не менее 1×10^9 КОЕ; *Bifidobacterium infantis* не менее 1×10^9 КОЕ; *Lactobacillus rhamnosus* не менее 1×10^9 КОЕ). После проведенного лечения вновь проводился забор пищеводного и желудочного содержимого для определения полостной микробиоты пищевода и желудка.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследование было включено 65 пациентов: 35 (54%) мужчин и 30 (46%) женщин. Средний возраст обследуемых составил $43,09 \pm 11,65$ лет. Средний возраст женщин, включенных в исследование, – $49,96 \pm 10,51$ лет, мужчин – $37,36 \pm 12,23$ лет. В основную группу вошли 19 (51,6%) мужчин и 18 (48,4%) женщин. В контрольной группе анализ проводился у 16 (57,1%) мужчин и 12 (42,9%) женщин. Распределение пациентов по полу и возрасту в между группами не достигли уровня статистической значимости ($p > 0,05$).

При анализе индекса массы тела обращают на себя внимание более высокие значения (медиана (25-75 перцентиль) 95 перцентиль) у пациентов основной

группы (26,63 (23,23 - 28,35) 34,95) по сравнению с контрольной (22,66 (19,0 – 24,78) 26,3), $p=0,015$.

Анализ клинической картины показал, что все пациенты, включенные в исследование, жаловались на изжогу. При этом больные с рецидивом ГЭРБ отмечали достоверно более частую и интенсивную изжогу ($p=0,019$, $\chi^2=4,97$ и $p=0,026$, $\chi^2=4,86$, соответственно), в том числе в ночное время (таблица 1). Следует также отметить, что купирование изжоги происходило самостоятельно только у лиц с впервые выявленной ГЭРБ (42%).

Таблица 1. Характеристики изжоги у исследуемых

Показатель	Основная группа	Контрольная группа	p
Частота изжоги			
1 раз в неделю	15,6%	12,5%	0,019
2-3 раза в неделю	50%	87,5%	
4-7 раз в неделю	34,4%	0	
Интенсивность изжоги			
Незначительная	9,7%	33,4%	0,026
Умеренная	22,6%	45,8%	
Выраженная	41,9%	20,8%	
Очень выраженная	25,8%	0	
Ночная изжога	35,5%	8,3%	0,042
Частота изжоги после еды			
Никогда	26%	12,5%	0,063
1 раз в неделю	15%	12,5%	
2-3 раза в неделю	37%	75%	
4-7 раз в неделю	22%	0	

Помимо более частой и интенсивной изжоги больные с рецидивирующим течением ГЭРБ отмечали у себя более частые горечь во рту, вздутие живота и тяжесть в эпигастральной области (таблица 2) ($p=0,033$, $\chi^2=4,75$, $p=0,012$, $\chi^2=4,89$ и $p=0,037$, $\chi^2=4,79$, соответственно).

Таблица 2. Клинические характеристики пациентов основной и контрольной групп

Группа	Симптом	Частота симптома				p
		Никогда	1 раз в неделю	2-3 раза в неделю	4-7 раз в неделю	
Основная	Отрыжка воздухом	7,41%	25,93%	29,63%	37,04%	0,12
Контрольная		0	25%	62,5%	12,5%	
Основная	Горечь во рту	33,33%	22,22%	37,04%	7,41%	0,033
Контрольная		62,5%	0	25%	12,5%	
Основная	Пищеводная дисфагия	40,74%	37,04%	11,11%	11,11%	0,54
Контрольная		37,5%	50%	0	12,5%	
Основная	Жжение во рту	40,74%	14,81%	25,93%	18,52%	0,14
Контрольная		37,5%	12,5%	37,5%	12,5%	
Основная	Вздутие живота	7,41%	29,63%	37,04%	25,93%	0,012
Контрольная		37,5%	25%	25%	12,5%	
Основная	Тяжесть в эпигастрии	0	18,52%	55,56%	25,92%	0,037
Контрольная		25%	25%	37,5%	12,5%	
Основная	Боль в эпигастрии	44,44%	29,63%	18,52%	7,41%	0,64
Контрольная		37,5%	37,5%	25%	0	

По данным ЭГДС в группе с рецидивом ГЭРБ у 22,6% пациентов выявлялось эрозивное поражение слизистой оболочки пищевода, а в группе с впервые выявленной ГЭРБ – в 8,3% (p=0,16). Согласно Лос – Анжелесской классификации у 77,4% больных основной группы и 91,7% контрольной обнаруживался рефлюкс – эзофагит 1 степени. В основной группе 2 степень эзофагита была выявлена у 16,2 % исследуемых, 3 степень – у 3,2% и 4 - у 3,2 %. В контрольной группе у 8,3% пациентов выявлялся эзофагит 2 степени и не встречались лица с эзофагитом 3 и 4 степени. При этом различия между группами не достигли уровня статистической значимости (p=0,09).

Результаты морфологического исследования биоптатов слизистой оболочки пищевода продемонстрировали достоверно более частое обнаружение в эпителии пищевода мононуклеарной инфильтрация эпителия у пациентов с рецидивирующим течением ГЭРБ, что свидетельствует о более выраженной степени воспаления у этих больных ($p=0,003$) (рисунок 1).

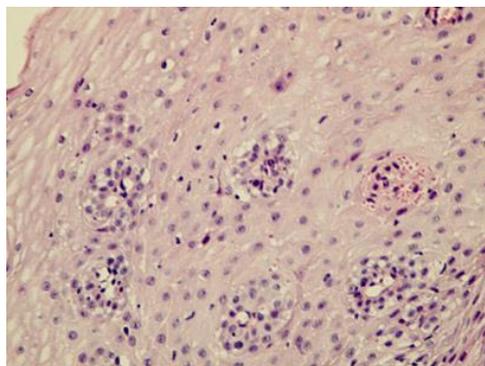


Рисунок 1. Мононуклеарная инфильтрация эпителия (А), х400

У больных в основной группе чаще выявлялся акантоз, который характеризуется пролиферацией базальных клеток слизистой оболочки пищевода и погружным ростом эпителия в собственную пластинку слизистой оболочки ($p=0,003$) (рисунок 2А). Также у пациентов с рецидивирующим течением ГЭРБ отмечалось удлинение соединительнотканых сосочков, возникающее синхронно с пролиферативным акантозом, что обусловлено выделением макрофагами фактора роста фибробластов и эпидермального фактора роста ($p=0,01$) (рисунок 2В).

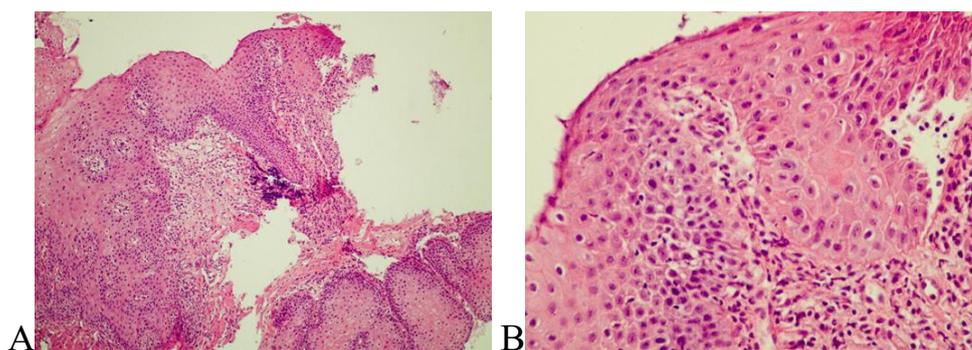


Рисунок 2. А - Акантоз, воспалительная инфильтрация собственной пластинки х100; В - удлинение сосочков собственной пластинки, х400

Анализ данных манометрии пищевода высокого разрешения продемонстрировал, что у пациентов основной группы по сравнению с контрольной достоверно чаще обнаруживается ГПОД, которая является фактором

риска рецидива ГЭРБ (18,9% и 3,6%, соответственно) ($P=0,03$, ОШ 1,24, ДИ 1,044-1,47). Обращает на себя внимание, что у больных в основной группе в 2,5 раза более протяженная длина разрыва сокращения грудного отдела пищевода (участок сокращения стенки пищевода с давлением менее 20 мм рт. ст., который считается «выпавшим» из сокращения), что также предрасполагает к рецидивированию ГЭРБ (ОШ 4,12 95%ДИ 1,14-14,89) (рисунок 3).

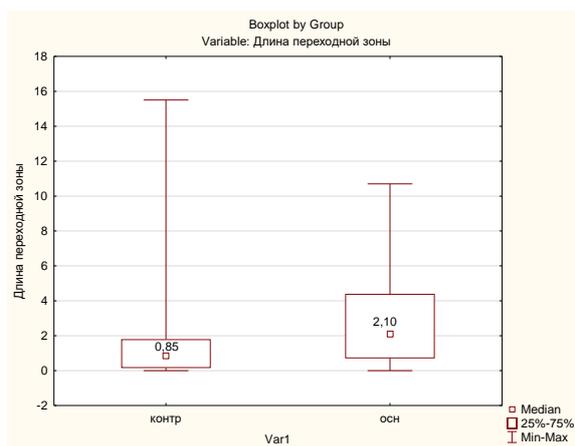


Рисунок 3. Длина разрыва сокращения грудного отдела пищевода

Отличительной особенностью двигательной функции пищевода у пациентов с рецидивирующим течением ГЭРБ является достоверно более частое снижение интенсивности сокращения дистального сегмента пищевода (у 45,2% основной группы и 16,7% - контрольной, $p=0,02$, $\chi^2=4,98$), увеличивающее риск рецидива ГЭРБ (ОШ 4,19 95%ДИ 1,14-14,89). Подобное нарушение двигательной функции рассматривается в рамках неэффективной моторики пищевода и согласно современным представлениям может приводить к замедлению пищевоного клиренса и увеличению времени экспозиции рефлюктата в пищеводе.

Также у пациентов основной группы гораздо реже встречались интактные (неизмененные) сокращения пищевода по сравнению с контрольной группой, что, по нашему мнению, может являться причиной рецидивирования ГЭРБ ($p=0,026$, $\chi^2=4,89$, ОШ 4,12 ДИ 1,14-14,89).

Особого внимания заслуживают результаты, полученные при проведении 24 - часовой рН- импедансометрии пищевода (таблица 3).

Таблица 3. Сравнительный анализ показателей 24- часовой рН- метрии у пациентов основной и контрольной групп

	Центильный интервал	Основная группа	Контрольная группа	р
Индекс DeMeester	Медиана	26,07	4,54	0,00001
	25-75	11,4-50,4	4,01-10,3	
	95	118,36	21,23	
Количество рефлюксов	Медиана	82	80	0,51
	25-75	54-109	54,5-96,0	
	95	155	114	
% времени с рН<4	Медиана	7,6	4,33	0,04
	25-75	4,1-13,6	1,29-9,0	
	95	33,0	36,34	
Рефлюксы более 5 минут	Медиана	4,3	1,0	0,00097
	25-75	1,0-7,1	0-1,6	
	95	20,9	5,4	
Самый длительный рефлюкс	Медиана	13,4	6,56	0,0027
	25-75	5,9-59	2,1-8,7	
	95	99,1	21,6	

Во - первых, по данным суточной рН - метрии у пациентов основной группы по сравнению с контрольной наблюдался гораздо более высокий индекс DeMeester (26,07 и 4,54, соответственно, $p=0,00001$). По нашему мнению, это объясняется нарушениями перистальтики пищевода, которые в данной работе чаще встречались у больных с рецидивом ГЭРБ (таблица 3). Во - вторых, у пациентов основной группы % времени с $pH<4$ в пищеводе составлял 7,6, а в контрольной 4,33, что также может быть объяснено нарушением перистальтической активности пищевода ($p=0,04$). В - третьих, у больных с рецидивом ГЭРБ было выявлено большее количество рефлюксов, продолжительностью более 5 минут, по сравнению с лицами с впервые выявленной ГЭРБ ($p=0,00097$), а медиана

продолжительности самого длительного рефлюкса составила 13,4 и 6,56 минут, соответственно ($p=0,0027$).

Согласно нашим данным физико – химические свойства рефлюктата не влияют на рецидивирование ГЭРБ. Очевидно, состав (смешанный, газовый, жидкий) рефлюктата и pH, а именно преобладание слабокислых и смешанных рефлюксов, играют роль только у пациентов с недостаточным ответом на терапию ИПП.

Микробиота пищевода и желудка у пациентов с рецидивирующим течением ГЭРБ и здоровых добровольцев

Одной из задач данного исследования было изучить полостную микробиоту пищевода и желудка у пациентов с рецидивом ГЭРБ и здоровых добровольцев. Проведенный анализ показал, что наиболее часто встречающимися бактериями в пищеводе у больных и здоровых были *Bacteroidetes* (34,2% и 25,8% соответственно), *Firmicutes* (27,3% и 25,5%), *Actinobacteria* (15,4% и 15,4%), *Proteobacteria* (3,5% и 11,7%), *Fusobacterium* (8,2% и 8,8%). В пищеводе у исследуемых идентифицировано более 170 бактериальных семейств, относительное содержание большинства из которых не превышает 1% (рисунок 4).

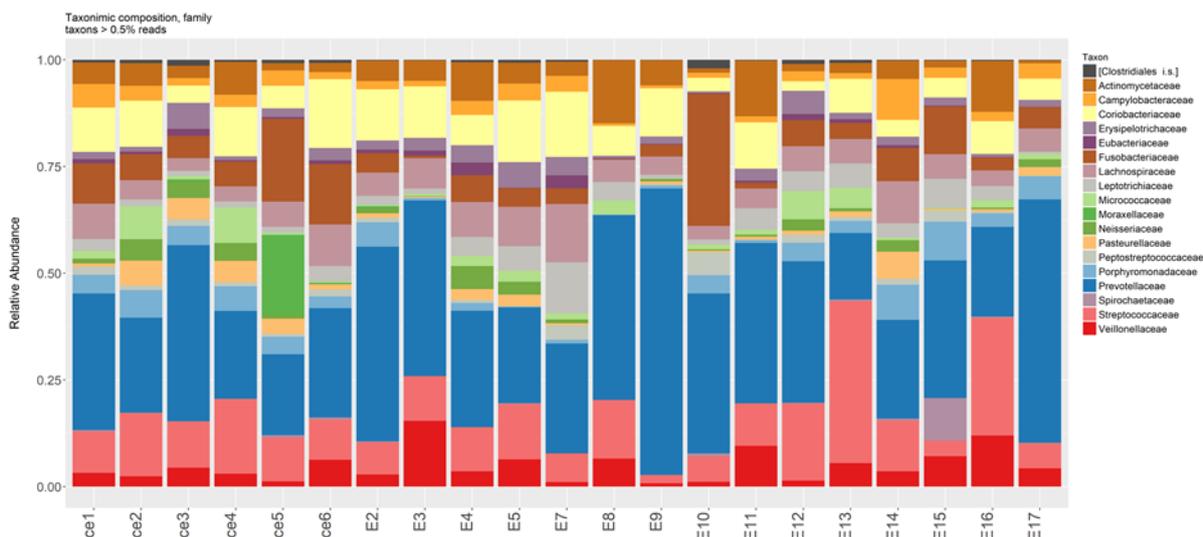


Рисунок 4. Относительное содержание основных бактериальных семейств в пищеводе у больных (E) и здоровых (ce)

Сравнительный анализ основных типов бактерий у больных и здоровых выявил более низкое относительного содержание *Proteobacteria* у первых (3,5% и

11,7%, соответственно) ($p = 0,04$). В пищеводе у пациентов с рецидивом ГЭРБ по сравнению со здоровыми идентифицировано меньше бактерий семейств *Acetobacteraceae*, *Moraxellaceae*, *Pasteurellaceae*, *Rhodocyclaceae*, *Bdellovibrionaceae* (тип *Proteobacteria*), а также *Bacillaceae* и *Clostridiales Insertae Sedis XI* (тип *Firmicutes*) и *Fusobacteriaceae* (тип *Fusobacteria*) ($p < 0,05$).

Наиболее распространенными типами бактерий в желудке у больных с рецидивом ГЭРБ и здоровых добровольцев были *Bacteroidetes* (28% и 24% соответственно), *Firmicutes* (26% и 27%), *Proteobacteria* (8,1% и 19,1%), *Actinobacteria* (14% и 9%), *Fusobacteria* (6% и 7%). Анализ бактериальных семейств в желудке продемонстрировал большое разнообразие грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов (рисунок 5).

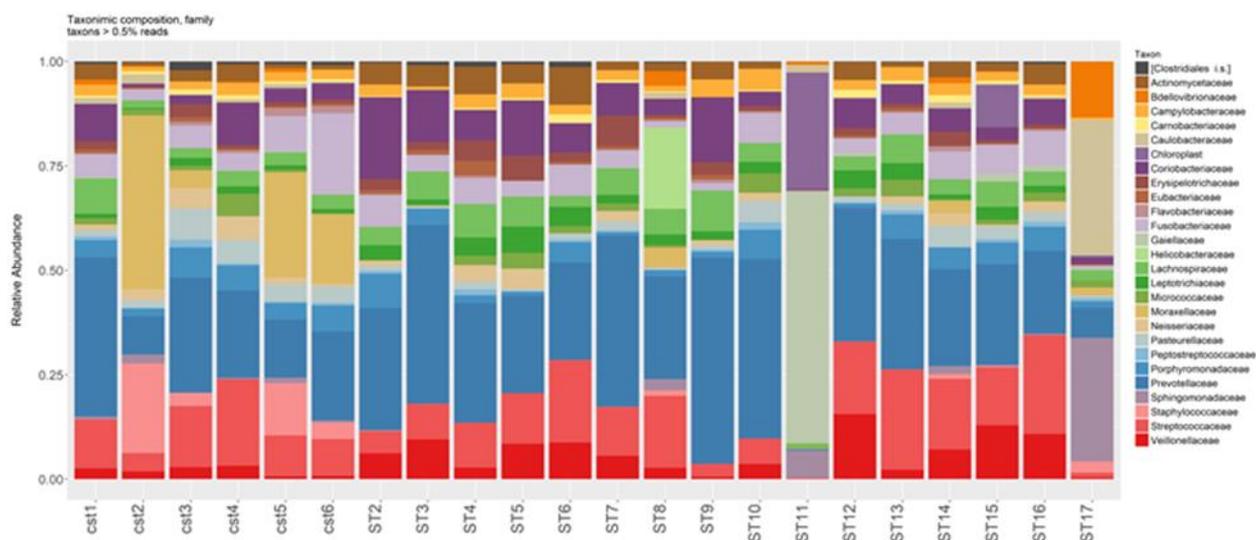


Рисунок 5. Относительное содержание основных бактериальных семейств в желудке у больных (ST) и здоровых (cst)

При сравнении относительного содержания основных типов бактерий в желудке у больных и здоровых, у пациентов с рецидивом ГЭРБ выявлено в два раза более низкое содержание *Proteobacteria* ($p=0,04$).

Исследование микробиоты пищевода до и после лечения ИПП в течение 8 недель продемонстрировало увеличение количества бактерий типа *Proteobacteria* в пищеводе ($p=0,017$). При добавлении к терапии ИПП комбинированного пробиотика также наблюдалось увеличение содержания бактерий, относящихся к типу *Proteobacteria* с 3,21% до 10,45%, ($p=0,03$). Кроме того, отмечается

уменьшение *Tenericutes* и *Cyanobacteria*, относительное количество которых как до, так и после лечения составило менее 1% ($p=0,04$ и $p=0,03$, соответственно).

В желудке терапия ИПП привела к уменьшению относительного содержания бактерий типа *Bacteroidetes* с 25% до 16%. У больных, получавших ИПП + пробиотик не было выявлено статистически значимых изменений бактериального состава микробиоты желудка на уровне типов.

Корреляционный анализ содержания основных типов бактерий и показателей 24 – часовой рН – импедансометрии продемонстрировал корреляцию между числом слабокислых рефлюксов и уменьшением *Actinobacteria* ($r= -0,62$, $p=0,03$) и увеличением *Candidatus Saccharibacteria* ($r=0,59$, $p=0,04$), между числом кислых рефлюксов в горизонтальном положении и уменьшением *Proteobacteria* ($r=-0,58$, $p=0,049$), содержанием *Bacteroidetes*, *Firmicutes* и количеством жидких рефлюксов ($r=0,66$, $p=0,02$ и $r=-0,63$, $p=0,03$, соответственно), а также увеличением 24- часовой экспозиции болюса в положении лежа и повышением содержания в пищеводе *Bacteroidetes* ($r=0,61$, $p=0,036$).

В то время, как в желудке была выявлена только корреляция между повышением внутрижелудочного рН после еды и увеличением относительного содержания только *Firmicutes* ($r=0,59$, $p=0,038$), а содержание бактерий типов *Fusobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria* не зависело от показателей рН (общие значения, в дневное и ночное время, после еды).

ВЫВОДЫ

1. У больных с рецидивирующим течением гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) (основная группа) по сравнению с пациентами с впервые выявленной ГЭРБ (контрольная группа) отмечается более частая и интенсивная изжога, возникающая в том числе в ночное время и нарушающая повседневную активность ($p=0,019$, $\chi^2=4,97$ и $p=0,026$, $\chi^2=4,86$, соответственно), чаще встречаются жалобы на горечь во рту, тяжесть в эпигастральной области, вздутие живота ($p=0,033$, $\chi^2=4,75$, $p=0,037$, $\chi^2=4,79$ и $p=0,012$, $\chi^2=4,89$, соответственно), чаще наблюдается избыточная масса тела ($p=0,015$).

2. Больные основной и контрольной групп не различаются между собой по степени рефлюкс-эзофагита, устанавливаемой при эндоскопическом исследовании. При морфологическом исследовании биоптатов слизистой оболочки пищевода у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ по сравнению с пациентами с впервые выявленной ГЭРБ обнаруживаются повышение количества мононуклеарных элементов в эпителии ($p=0,003$) и чаще отмечается увеличение длины соединительнотканых сосочков ($p = 0,01$), что отражает более высокую активность воспаления у пациентов основной группы.

3. По данным манометрии пищевода высокого разрешения у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ по сравнению с пациентами с впервые выявленной ГЭРБ снижена интенсивность сокращения дистального сегмента (DCI) ($p=0,02$, $\chi^2=4,98$), в 2,5 раза более протяженным оказывается разрыв сокращения стенки пищевода ($p=0,02$), определяется меньшее количество интактных (неизмененных) сокращений дистального сегмента пищевода ($p=0,026$, $\chi^2=4,89$), достоверно чаще обнаруживается грыжа пищеводного отверстия диафрагмы ($p=0,03$). Риск рецидивирования ГЭРБ выше у больных со сниженной интенсивностью дистального сегмента (ОШ 4,19 95%ДИ 1,14-14,89), более протяженным разрывом сокращения стенки пищевода (ОШ 4,12 95%ДИ 1,14-14,89) и грыжей пищеводного отверстия диафрагмы (ОШ 1,24 95%ДИ 1,044-1,47).

4. По данным 24 - часовой рН - импедансометрии у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ по сравнению с пациентами контрольной группы выявляются более высокий индекс DeMeester (26,07 и 4,54, соответственно, $p=0,00001$), увеличение процента времени с $pH<4$ в пищеводе в течение суток (7,6 и 4,33, соответственно, $p=0,04$), увеличение времени экспозиция болюса (общего и в положении лежа) ($p=0,04$), более длительные рефлюксы ($p=0,0027$) и большее число рефлюксов продолжительностью более 5 минут ($p=0,00097$), что вероятнее всего связано с нарушениями перистальтики пищевода. Состав и уровень рН рефлюктата не различаются в основной и контрольной группах больных.

5. Основными типами бактерий в пищеводе у пациентов с рецидивирующим течением ГЭРБ и здоровых лиц являются грамотрицательные Bacteroidetes,

Fusobacteria и Proteobacteria и грамположительные Firmicutes и Actinobacteria. У больных ГЭРБ по сравнению со здоровыми лицами отмечается уменьшение относительного содержания Proteobacteria (3,5% и 11,7%, соответственно). Содержание в пищеводе грамположительных и грамотрицательных бактерий у здоровых и больных ГЭРБ не различается между собой ($p > 0,05$).

6. У больных с рецидивирующим течением ГЭРБ отмечается корреляция между числом слабокислых рефлюксов и уменьшением содержания Actinobacteria ($r = -0,62$, $p = 0,03$) и увеличением содержания Candidatus Saccharibacteria ($r = 0,59$, $p = 0,04$), а также между числом кислых рефлюксов в горизонтальном положении и уменьшением содержания Proteobacteria ($r = -0,58$, $p = 0,049$). Содержание Bacteroidetes и Firmicutes коррелирует с количеством жидких рефлюксов ($r = 0,66$, $p = 0,02$ и $r = -0,63$, $p = 0,03$, соответственно). Увеличение 24- часовой экспозиции болюса в положении лежа коррелирует с повышением содержания в пищеводе грамотрицательных Bacteroidetes ($r = 0,61$, $p = 0,036$).

7. Микробиота желудка у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ и здоровых добровольцев представлена главным образом грамотрицательными бактериями типа Bacteroidetes, Fusobacteria, Proteobacteria и грамположительными бактериями типов Firmicutes и Actinobacteria. У пациентов с ГЭРБ по сравнению со здоровыми отмечается двукратное уменьшение относительного содержания Proteobacteria в желудке ($p = 0,04$).

8. Содержание в желудке бактерий типов Fusobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria и Proteobacteria не зависит от показателей pH (общие значения, в дневное и ночное время, после еды). Повышение внутрижелудочного pH после еды коррелирует с увеличением относительного содержания только Firmicutes ($r = 0,59$, $p = 0,038$).

9. Применение ингибиторов протонной помпы (ИПП) в течение 8 недель приводит к повышению относительного содержания Proteobacteria в пищеводе и снижению содержания Bacteroidetes в желудке. При добавлении к терапии ИПП комбинированного пробиотика (Bifidobacterium bifidum не менее 1×10^9 КОЕ; Bifidobacterium longum не менее 1×10^9 КОЕ; Bifidobacterium infantis не менее 1×10^9

КОЕ; *Lactobacillus rhamnosus* не менее 1×10^9 КОЕ) наблюдается увеличение количества Proteobacteria с 3,21% до 10,45% ($p=0,03$) и уменьшение содержания Tenericutes и Cyanobacteria в пищеводе ($p=0,04$ и $p=0,03$, соответственно), тогда как относительное содержание основных типов бактерий в желудке не изменяется.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с рецидивирующим течением ГЭРБ рекомендовано проведение комплексного обследования с оценкой функциональных показателей с помощью манометрии пищевода и 24 - часовой рН- импедансометрии для определения характера рефлюктата и верификации двигательных нарушений пищевода с целью подбора индивидуализированной терапии.

2. Всем больным с ГЭРБ, имеющим избыточный вес, необходимо рекомендовать нормализовать ИМТ, что позволит уменьшить риск рецидива ГЭРБ.

3. Снижение интенсивности сокращения дистального сегмента, уменьшение числа интактных сокращений, наличие грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, а также увеличение длины переходной зоны являются факторами риска рецидивирования ГЭРБ.

4. При выявлении двигательных нарушений пищевода, ГПОД могут оказаться эффективными мероприятия, направленные на улучшение эвакуации из желудка и уменьшение кислотности рефлюктата: употребление щелочных минеральных вод, включение в рацион, особенно в вечернее время, фруктов и овощей, которые быстрее эвакуируются из желудка по сравнению с мясными продуктами.

Медикаментозная терапия у таких пациентов должна проводиться с включением прокинетиков, нормализующих моторику верхних отделов ЖКТ.

5. Понимание роли микробиоты пищевода и желудка в патогенезе ГЭРБ, а также способов ее коррекции, позволит решить вопрос о возможности изменений ее состава при лечении пациентов с ГЭРБ.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Румянцева Д.Е., Трухманов А.С., Шептулина А.Ф., Юрьева Е.Ю., Напалкова Н.Н., Сторонова О.А., Коньков М.Ю., Ивашкин В.Т. Некупируемая

икота у пациента 64 лет. / Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии // 2016; 26(3):93-102.

2. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Ивашкин К.В., Корочанская Н.В., Лопина О.Д., Лапина Т.Л., Полуэктова Е.А., **Румянцева Д.Е.**, Симаненков В.И., Трухманов А.С., Хлынов И.Б., Шептулин А.А. Роль нарушения защитных факторов в развитии кислотозависимых заболеваний (резолуция Экспертного совета 12–13 марта 2016 г.) // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2016. № 26 (3). С. 115.

3. **Румянцева Д.Е.**, Трухманов А.С., Кокина Н.И., Рощина Т.В., Сторонова О.А., Коган Е.А., Степанов А.В., Шептулина А.Ф., Ивашкин В.Т. Пациентка 52 лет с интерстициальной пневмонией, дисфагией и синдромом Рейно./ Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии //2017; 27(3):34-44.

4. **Румянцева Д.Е.**, Трухманов А.С., Сторонова О.А., Параскевова А.В., Пономарев А.Б., Ивашкин В.Т. Результаты 24-часовой рН-импедансометрии у пациентов с впервые выявленной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и рецидивом заболевания // РГГК. Материалы XXII Российской Гастронедели. 2017. № 5. Т. 27. прил. 50. С. 8.

5. Параскевова А.В., Лямина С.В., Калиш С.В., Сторонова О.А., Пирогов С.С., Пономарев А.Б., **Румянцева Д.Е.**, Иванов М.И., Трухманов А.С., Малышев И.Ю., Маев И.В., Ивашкин В.Т. Фенотип макрофагов и данные 24- часовой рН-импедансометрии у пациентов с НЭРБ, эрозивным эзофагитом и пищеводом Баррета // РГГК. Материалы XXII Российской Гастронедели. 2017. № 5. Т. 27. прил. 50. С. 7.

6. S. Lyamina, S. Kalish, A. Paraskevova, O. Storonova, S. Pirogov, A. Ponomarev, **D. Rummyantseva**, A.S. Trukhmanov, V.T. Ivashkin, I. Maev, I. Malyshev. Gastroesophageal reflux disease patients refluxate type influence on macrophage phenotype. // United European Gastroenterology Journal – October 2017: Vol.5 (5S): Suppl. 1- P. A 795, P1844.

7. **Румянцева Д.Е.**, Трухманов А.С., Кудрявцева А.В., Ивашкин В.Т. Влияние кислотосупрессии на микробиоту желудочно-кишечного тракта./

Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии //2018; 28(1):78-88.

8. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Трухманов А.С., Сторонова О.А., Кучерявый Ю.А., Баркалова Е.В., Овсепян М.А., Андреев Д.Н., Параскевова А.В., **Румянцева Д.Е.** Манометрия высокого разрешения и новая классификация нарушений моторики пищевода./ Терапевтический архив// 2018 (5): 93-100.

9. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Трухманов А.С., **Румянцева Д.Е.** Современные достижения в диагностике и лечении рефрактерной формы гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. /Терапевтический архив// 2018 (8): 4-12.

10. **Румянцева Д.Е.**, Трухманов А.С., Кудрявцева А.В., Краснов Г.С., Параскевова А.В., Сторонова О.А., Пономарев А.Б. Микробиота пищевода и желудка у больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и здоровых добровольцев. /**Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии**// 2018; 28(4):36-46.

11. A. Paraskevova, S. Lyamina, S. Kalish, O. Storonova, S. Pirogov, A. Ponomarev, K. Sokolov, **D. Rummyantseva**, A. Trukhmanov, I. Malyshev, I. Maev, V. Ivashkin. Esophageal dysmotility and prevalence of expression CD25 marker in GERD patient // United European Gastroenterology Journal – October 2018: Vol.6 (8S): Suppl. 1- P. A 512, P1149.

12. **D. Rummyantseva**, A. Paraskevova, O. Storonova, A. Kudryavtseva, G. Krasnov, A. Ponomarev, A. Trukhmanov, V. Ivashkin. Esophageal intraluminal microbiota in patient with gastroesophageal reflux disease and healthy control // United European Gastroenterology Journal – October 2018: Vol.6 (8S): Suppl. 1- P. A 300, P0506.

13. Зонд для забора пищеводной и желудочной слизи. **Патент 179203**. Российская Федерация: Б.Л. Бибер, М.Л. Мацко, В.Т. Ивашкин, А.С. Трухманов, **Д.Е. Румянцева**, О.А. Сторонова, А.В. Параскевова; заявитель и патентообладатель ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), ЗАО «МедСил». - №2016148249; заявл. 08.12.16; опубл 03.05.18, Бюллетень №13.

14. Трухманов А.С., Румянцева Д.Е. Тактика ведения пациентов с разными формами гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. /Гастроэнтерология. Хирургия. Интенсивная терапия. Consilium Medicum.// 2019; 1: 7–12.