

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. И.М. СЕЧЕНОВА МИНЗДРАВА РОССИИ
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Румянцева Диана Евгеньевна

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

14.01.04 - внутренние болезни

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор А.С. Трухманов

МОСКВА - 2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: прошлое, настоящее, будущее.....	8
1.2. Современные представления о патогенезе гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.....	10
1.3. Современные достижения в диагностике гастроэзофагеальной рефлюксной болезни	13
1.4. Роль микробиоты в развитии заболеваний пищевода.....	14
1.5. Проблема рецидивирования гастроэзофагеальной рефлюксной болезни...	22
1.6. Современные представления о систематике бактерий.....	23
ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Дизайн исследования.....	25
2.2. Характеристика используемых методов исследования.....	28
2.3. Общая характеристика обследуемых больных.....	50
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	
3.1. Особенности клинической картины у пациентов с рецидивом гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.....	52
3.2. Эндоскопическая картина пищевода у пациентов с впервые выявленной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и ее рецидивом.....	60
3.3. Морфологическая картина слизистой оболочки пищевода при рецидивировании гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.....	63
3.4. Особенности двигательной функции пищевода у пациентов при рецидивировании гастроэзофагеальной рефлюксной болезни	67
3.5. Сравнительный анализ показателей 24- часовой рН- импедансометрии у пациентов с впервые выявленной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и ее рецидивом.....	72
3.6. Микробиота пищевода у пациентов с рецидивом гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.....	81

3.7. Микробиота желудка у пациентов с рецидивом гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.....	92
---	----

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ

4.1. Влияние ингибиторов протонной помпы и пробиотиков на микробиоту пищевода и желудка.....	99
4.1.1. Влияние ингибиторов протонной помпы на микробиоту пищевода.....	99
4.1.2. Изменение микробиоты пищевода при добавлении пробиотиков к терапии ингибиторами протонной помпы	102
4.1.3. Влияние ингибиторов протонной помпы на микробиоту желудка.....	106
4.1.4. Изменение микробиоты желудка при добавлении пробиотиков к терапии ингибиторами протонной помпы	109
Клинические наблюдения.....	112
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	122
ВЫВОДЫ.....	137
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	140
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	141
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	142
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	159

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) занимает лидирующие позиции среди заболеваний желудочно - кишечного тракта, достигая распространенности 18 - 46% в Российской Федерации [16]. В развитых странах 20-40% населения страдают изжогой - основным симптомом ГЭРБ.

Актуальность ГЭРБ определяется не только ее широкой распространенностью, но также риском возникновения осложнений (пищевода Баррета, являющегося фоном для развития аденокарциномы пищевода, развитие пептических стриктур, кровотечений из язв и эрозий), снижением качества жизни пациентов [16, 50].

В настоящее время в литературе встречается большое количество работ, посвященных изучению основных звеньев патогенеза, особенностей клинических проявлений, проблем диагностики и лечения ГЭРБ. С внедрением в клиническую практику 24- часовой рН- импедансометрии и манометрии пищевода высокого разрешения стало возможным назначать терапию в соответствии с особенностями двигательных нарушений пищевода и характера рефлюктата. Несмотря на то, что появляются новые методы диагностики и совершенствуются подходы к терапии, 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% [66, 85, 111, 134].

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 диагностические подходы, 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) [24], позволило обнаружить микроорганизмы, которые ранее не удавалось идентифицировать культуральным методом. Лишь немногочисленные исследования посвящены изучению микробиоты пищевода при ГЭРБ, пищеводе Баррета, аденокарциноме пищевода. В этом свете изучение бактериального состава пищевода и желудка у больных с рецидивом ГЭРБ, а также его изменение при лечении ИПП и пробиотиками является весьма актуальной и недостаточно изученной проблемой.

Цель исследования

Изучить клинические, эндоскопические, морфологические и функциональные особенности у больных с рецидивом гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, а также 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 рецидивом ГЭРБ.
7. Изучить влияние терапии ингибиторами протонной помпы и пробиотиками на состав микробиоты пищевода.

8. Исследовать микробиоту желудка у пациентов с рецидивирующим течением ГЭРБ.

9. Изучить влияние ингибиторов протонной помпы и пробиотиков на состав микробиоты желудка.

Новизна предлагаемой темы

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 с помощью секвенирования 16S рРНК исследована полостная микробиота пищевода и желудка у пациентов с рецидивирующим течением гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. В рамках данной диссертационной работы впервые было изучено влияние ингибиторов протонной помпы и пробиотиков на состав микробиоты пищевода и желудка.

Практическая ценность

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 индивидуализированной терапии для более длительного поддержания клинической и эндоскопической ремиссии у пациентов с ГЭРБ. Внесен важный вклад в современное понимание роли микробиома пищевода у больных с ГЭРБ, что позволит в дальнейшем выявить новые патогенетические звенья развития и прогрессирования заболевания и методы воздействия на них.

Внедрение 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).

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

Личный вклад автора

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

Публикации

Основное содержание диссертационного исследования достаточно полно отражено в 13 научных работах соискателя, в том числе в 8 статьях в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России и получен 1 патент на полезную модель № 179203 с приоритетом от 08.12.16 года 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: прошлое, настоящее, будущее

Под гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью понимают хроническое рецидивирующее заболевание, характеризующееся забросом содержимого желудка в пищевод вследствие нарушений моторно – эвакуаторной функции органов гастроэзофагеальной зоны, что приводит к повреждению слизистой оболочки пищевода и появлению клинических симптомов, снижающих качество жизни пациента [16 -18, 22, 43].

Распространенность ГЭРБ во всем мире составляет от 8% до 33% [118]. Отмечено, что изжога, являющаяся основным симптомом ГЭРБ, встречается с различной частотой примерно у 40% людей. Двадцать восемь исследований, изучающих эпидемиологию ГЭРБ показали, что распространенность заболевания составляет 18,1 - 27,8% в Северной Америке, 8,8 - 25,9% в Европе, 2,5 - 7,8% в Восточной Азии, 8,7 - 33,1% в Ближнем Востоке, 11,6% в Австралии, 23,0% в Южной Америке, 11,9% Турции [58, 60]. В России ГЭРБ страдают 18 - 46% взрослого населения [16]. Заболеваемость неуклонно растет и в период с 1995 года отмечается примерно 50% увеличение количества больных в США, Европе и в Восточной Азии.

Но несмотря на большое число эпидемиологических исследований, точная распространенность ГЭРБ неизвестна ввиду широкого спектра клинических проявлений, а также вследствие того, что не все пациенты обращаются к врачу и при возникновении изжоги принимают препараты самостоятельно.

Однако актуальность заболевания определяется не только его распространенностью и тенденцией к росту, но также риском развития таких осложнений, как кровотечения из эрозий и язв, пептические стриктуры, пищевод Баррета, на фоне которого возможно возникновение аденокарциномы пищевода (АКП) [51]. У 8% пациентов с ГЭРБ выявляется пищевод Баррета [16]. На фоне пищевода Баррета ежегодно у 0,4–0,6% больных развивается

дисплазия высокой степени и АКП. При низкой степени дисплазии эпителия пищевода ежегодно АКП образуется у 0,5% пациентов, при высокой степени – у 6%, в отсутствии дисплазии – у 0,1% [11, 12, 14, 19].

За последние 20 лет с момента выделения ГЭРБ в отдельную нозологическую форму, удалось более подробно изучить основные звенья патогенеза, усовершенствовать методы диагностики, достигнуть определенных успехов в лечении. Но несмотря на это остается много нерешенных вопросов, одним из которых является рецидивирование ГЭРБ после проведенного лечения. Это обуславливает необходимость изучения клинических, эндоскопических, морфологических и функциональных особенностей, которые способны приводить к рецидиву ГЭРБ.

Клинические проявления ГЭРБ, согласно Монреальской классификации, можно разделить на две группы: пищеводные и внепищеводные (таблица 1) [37, 135].

Таблица 1. Клинические проявления гастроэзофагеальной рефлюксной болезни

Пищеводные проявления		Внепищеводные проявления	
Симптоматические пищеводные синдромы	Синдромы с повреждением пищевода	Установлена связь с ГЭРБ	Связь с ГЭРБ предполагается
Типичный симптомокомплекс рефлюкса: изжога, отрыжка, срыгивание, одинопфагия	Рефлюкс - эзофагит	Бронхиальная астма рефлюксной природы	Рецидивирующий средний отит
Синдром некардиальной боли в груди («non-cardiac chest pain»)	Рефлюксные стриктуры	Кашель рефлюксной природы	Синуситы
	Пищевод Баррета	Ларингит рефлюксной природы	Фарингиты
	Аденокарцинома пищевода	Отит рефлюксной природы	Идиопатический фиброз легких

Изжога является самым частым симптомом ГЭРБ и встречается у 83% больных, отрыжка наблюдается у 53% пациентов [16, 28]. Эти симптомы, как правило, связаны с приемом пищи, физическими нагрузками, принятием горизонтального положения и наклонами. Реже встречаются такие симптомы, как дисфагия и одиофагия (у 19% больных). Пептические стриктуры встречаются у менее 5% пациентов, страдающих ГЭРБ.

В настоящее время получены убедительные данные связи ГЭРБ с такими синдромами, как бронхиальная астма рефлюксной природы, кашель, ларингит, эрозии зубной эмали [1]. Обсуждается вероятность возникновения фарингита, синусита, рецидивирующего среднего отита и идиопатического фиброза легких на фоне ГЭР [16, 135]. В многочисленных исследованиях продемонстрировано, что у больных ГЭРБ выше риск развития бронхиальной астмы, а также увеличение тяжести ее течения. Отмечено, что у больных бронхиальной астмой добавление к базисной терапии ингибиторов протонной помпы, повышает эффективность лечения [34].

Внепищеводные проявления ГЭРБ следует заподозрить у пациентов, которые жалуются на изжогу. При отсутствии изжоги, для верификации внепищеводных симптомов требуется проведение 24- часовой рН-импедансометрии пищевода с определением индекса симптома (корреляция ГЭР и появления симптомов).

1.2. Современные представления о патогенезе гастроэзофагеальной рефлюксной болезни

ГЭРБ относится к кислотозависимым заболеваниям с исходным нарушением моторики верхних отделов желудочно - кишечного тракта, а именно, недостаточностью нижнего пищеводного сфинктера [7, 16, 25, 45, 49]. Ключевым фактором патогенеза ГЭРБ является патологически высокая частота и/или длительность эпизодов заброса содержимого желудка в пищевод. Именно соляная кислота желудочного содержимого является основным повреждающим фактором слизистой оболочки пищевода и приводит к появлению клинических и морфологических проявлений заболевания [16].

Механизм возникновения ГЭРБ рассматривается как нарушение равновесия между факторами защиты слизистой оболочки пищевода и факторами агрессии (рисунок 1).

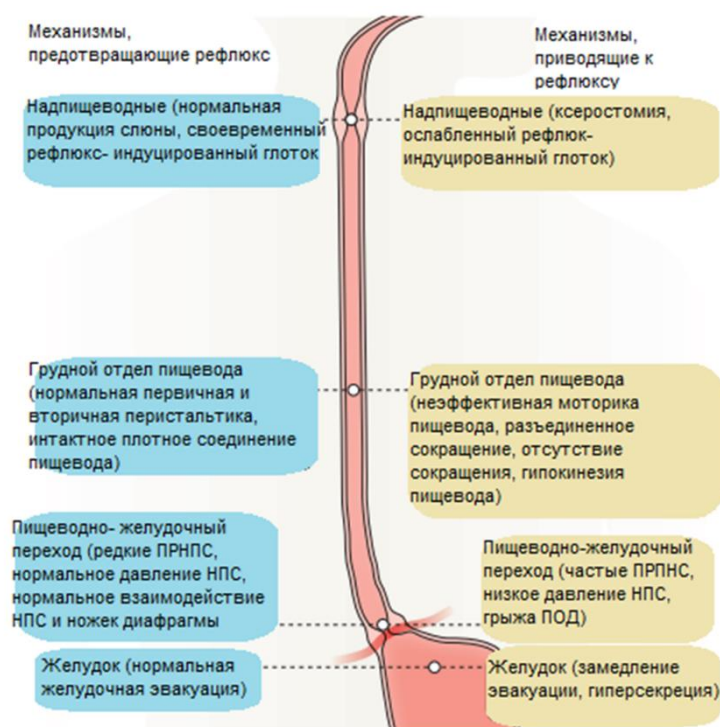


Рисунок 1. Основные факторы патогенеза ГЭРБ [116]

К факторам агрессии относятся кислые и щелочные ГЭР, нарушение моторики пищевода (неэффективная моторика, разъединенное сокращение, отсутствие сокращения, гипокинезия пищевода), преходящие расслабления нижнего пищеводного сфинктера (ПРНПС), снижение давления НПС, наличие ГПОД, значительное повышение секреции соляной кислоты, замедление эвакуации из желудка, а также снижение секреции муцинов в пищеводной слизи [4, 114, 123, 139].

Факторами защиты в свою очередь являются нормальная первичная и вторичная перистальтика, нормальное давление НПС, редкие ПРНПС, нормальное функционирование пищеводно - желудочного соединения (ПЖС), слизистый слой, содержащий муцины и покрывающий эпителий пищевода, нормальная продукция слюны, своевременная эвакуация из желудка [44].

Согласно современным представлениям, у большинства больных ГЭР возникают во время преходящих расслаблений НПС. ПРНПС представляют

собой эпизоды снижения давления в НПС до уровня давления в желудке, продолжительностью более 10 секунд и не связанные с приемом пищи [20]. ПРНПС в 85% случаев могут быть причиной рефлюкса у здоровых лиц и пациентов с НЭРБ [72].

Кроме того, в настоящее время рассматривается взаимное влияние ПРНПС и нарушения структуры ПЖС [72]. ПЖС – это зона повышенного давления, которая включает в себя ножки диафрагмы и собственно НПС [18]. Деструктуризация ПЖС включает в себя несколько компонентов: различная степень выраженности слабости ножек диафрагмы, наличие ГПОД. Последняя может ухудшать антирефлюксную функцию во время ПРНПС, а также влиять на собственно тоническую составляющую сфинктера [125]. Нарушение структуры зоны ПЖС приводит к забросу в пищевод из желудка относительно больших объемов рефлюктата во время ПРНПС.

Важная роль в патогенезе ГЭРБ, а особенно НЭРБ отводится особенностям слизистой оболочки (СО) пищевода. Развитию воспаления способствует длительный контакт СО с рефлюктатом ($\text{pH} < 4$), который помимо соляной кислоты может содержать пепсин, желчные кислоты, ферменты, лизолецитин и бикарбонаты [42]. Таким образом, во время ГЭР происходит смещение показателей pH в пищеводе в сторону более низких значений. Защитным механизмом, способным устранить сдвиги внутрипищеводного pH, является клиренс пищевода. Очищение пищевода осуществляется благодаря механическому (объемному) и химическому клиренсу. Первый зависит от первичной и вторичной перистальтики, второй – от процесса слюноотделения и состава слюны, содержащей бикарбонаты. Причинами, влияющими на замедление пищеводного клиренса, являются неэффективная и/или фрагментированная перистальтика, отсутствие сокращений, что в свою очередь усугубляет течение ГЭРБ [27, 46].

1.3. Современные достижения в диагностике гастроэзофагеальной рефлюксной болезни

Современная диагностика ГЭРБ включает в себя помимо анализа клинической картины, ЭГДС с биопсией пищевода и рентгеноскопии пищевода с сульфатом бария, такие методы, как манометрия пищевода высокого разрешения и 24- часовая рН- импедансометрия пищевода [47].

ЭГДС позволяет не только оценить степень тяжести рефлюкс – эзофагита, но также получить биоптаты слизистой оболочки пищевода для дальнейшего гистологического исследования с целью исключения эозинофильного эзофагита, пищевода Баррета и аденокарциномы пищевода [89, 119].

Внедрение манометрии пищевода и 24 - часовой рН - импедансометрии в клиническую практику позволило значительно расширить диагностические возможности и улучшить качество оказания медицинской помощи путем индивидуализации терапии.

Манометрия пищевода высокого разрешения у больных с ГЭРБ позволяет изучить качественные и количественные показатели давления в пищеводе, оценить перистальтическую активность пищевода, визуализировать ГПОД, а также ПРНПС [40, 76, 98, 136]. Данный метод исследования является важным для описания первичных нарушений перистальтики пищевода у взрослых, используя принятую Чикагскую классификацию 3-го пересмотра [88]. Кроме того, манометрия пищевода позволяет определить расстояние до НПС, необходимое для проведения рН - импедансометрии. Следует также отметить, что проведение манометрии обязательно для пациентов, которым планируется фундопликация.

24 - часовая рН - импедансометрия позволяет обнаруживать ГЭР независимо от типа рефлюктата (кислые, слабокислые, слабощелочные) и его физических характеристик (жидкие, газовые, смешанные). Также благодаря этому методу возможен расчет клиренса пищевода, определение высоты проксимального распространения рефлюксов, выявление связи симптомов с эпизодами ГЭР [17, 26, 32, 39].

Проведение каждого из указанных исследований является важным, поскольку позволяет выявить основные функциональные характеристики у больных ГЭРБ, что необходимо для персонализированного подхода к лечению и профилактике рецидивов ГЭРБ.

1.4. Роль микробиоты в развитии заболеваний пищевода

В пищеводе, который до недавнего времени считался стерильным, L. Yang и соавт. продемонстрировали наличие двух основных типов микробиоты. Микробиота I типа представлена преимущественно грамположительными бактериями и характерна для здорового пищевода. Микробиота II типа главным образом состоит из грамотрицательных анаэробов/ микроаэрофилов из типа *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и *Spirochaete*, относящихся к домену *Bacteria*, и чаще определяется у пациентов с ГЭРБ или пищеводом Баррета [146].

Еще одно исследование, в котором изучалась микробиота дистальной части пищевода, выполнена N. Liu и соавт. [95]. В исследование были включены японцы, страдающие ГЭРБ, пищеводом Баррета и лица с нормальной эндоскопической картиной пищевода. Авторы продемонстрировали, что наиболее часто встречающимися микроорганизмами в пищеводе были бактерии родов *Prevotella* (семейство *Prevotellaceae*, порядок *Bacteroidales*, класс *Bacteroidia*, тип *Bacteroidetes*), *Streptococcus* (семейство *Streptococcaceae*, порядок *Lactobacillales*, класс *Bacilli*, тип *Firmicutes*), и *Helicobacter* (семейство *Helicobacteraceae*, порядок *Campylobacteriales*, класс *Epsilonproteobacteria*, тип *Proteobacteria*). Также было выявлено, что у пациентов с ГЭРБ и пищеводом Баррета, по сравнению со здоровыми, обнаруживались бактерии родов *Fusobacterium* (семейство *Fusobacteriaceae*, порядок *Fusobacteriales*, класс *Fusobacteria*, тип *Fusobacteria*), *Veillonella* (семейство *Veillonellaceae*, порядок *Veillonellales*, класс *Negativicutes*, тип *Firmicutes*) и *Neisseria* (семейство *Neisseriaceae*, порядок *Neisseriales*, класс *Betaproteobacteria*, тип *Proteobacteria*).

Другие авторы также продемонстрировали различия микробного состава пищевода в норме и патологии, подчеркнув, что в здоровой слизистой пищевода преобладают грамположительные бактерии типа *Firmicutes*, а при ГЭРБ и пищеводе Баррета доминируют грамотрицательные штаммы *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и *Spirochaete* [36, 78].

Состав микробиоты представляет большой интерес, так как его изменения играют важную роль в развитии и течении заболеваний органов ЖКТ [103]. Этот процесс достаточно подробно продемонстрирован при заболеваниях кишечника, *H. pylori* – ассоциированном гастрите, язвенной болезни желудка. Однако данных, касающихся взаимосвязи заболеваний пищевода и его микробиоты, в литературе очень мало. Относительно немногочисленные исследования демонстрируют способность микробиоты пищевода влиять на его моторную функцию, в том числе на ГЭР. Это влияние реализуется преимущественно с помощью липополисахаридов (ЛПС). ЛПС входят в состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий и обеспечивают структурную целостность бактериальной стенки, защищают мембрану от агрессивных внешних воздействий. Структура ЛПС включает в себя три ковалентно связанных компонента: О - антиген, центральный полисахарид и липид А. ЛПС способны индуцировать иммунные реакции и приводить к каскаду воспалительных и опухолевых реакций [147].

ЛПС грамотрицательных бактерий, действующие как эндотоксин, способствуют секреции провоспалительных цитокинов во многих типах клеток. Множество ответов на ЛПС опосредуются за счет активации толл - подобных рецепторов (TLRs), главным образом TLR4. TLRs являются классом клеточных рецепторов с одним трансмембранным фрагментом, которые распознают консервативные структуры микроорганизмов (липид А) и активируют клеточный иммунный ответ [9, 79]. Взаимодействие лигандов с TLR4 сопровождается активацией ядерного фактора κB (NF- κB), NO- синтазы и синтезом оксида азота (NO), циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) и продукцией интерлейкина 8 (IL8).

Транскрипционный фактор NF- κ B присутствует во всех клетках организма человека и играет важную роль в регуляции экспрессии большого количества генов, продукции провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL8). NF- κ B представляет собой гетеродимер, в состав которого могут входить различные комбинации белков: NF- κ B1 (или p50), NF- κ B2 (или p52), RelA (или p65), RelB и c-Rel.

NF- κ B принимает участие в патогенезе ГЭРБ. Транскрипционный фактор регулирует повышенную экспрессию генов и последующее вовлечение в воспаление, врожденные иммунные реакции, адаптивные иммунные реакции, пролиферацию клеток и их дифференцировку, а также блокирование апоптоза, что приводит к развитию и прогрессированию ГЭРБ [9].

В настоящее время описаны два пути активации NF- κ B: классический (каноническая активация), альтернативный (неканоническая активация) (рисунок 2).

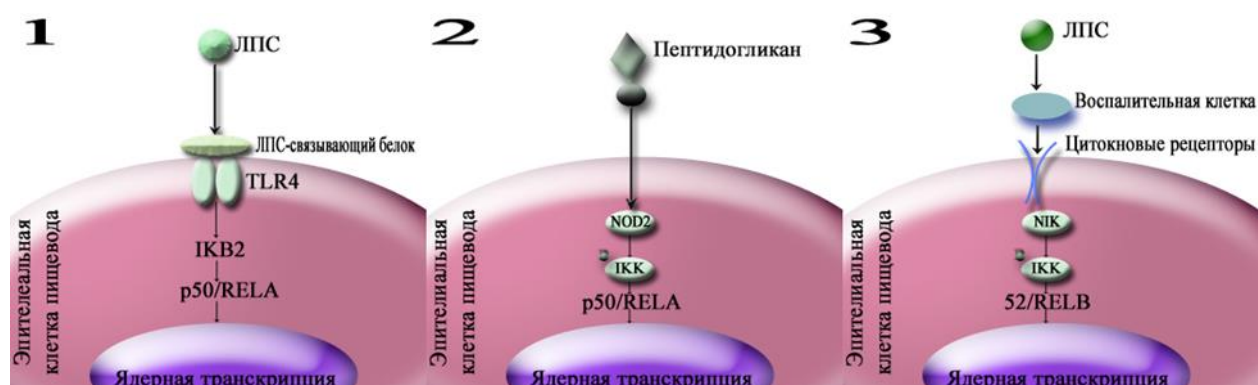


Рисунок 2. Схема активации NF- κ B

1 – каноническая активация (классический путь): а) взаимодействие ЛПС бактериальной клетки с TLR4 эпителиальной клетки [2]; б) NF- κ B находится в комплексе с ингибиторным белком и ключевую роль играет активация I κ B - киназного комплекса в результате фосфорилирования киназы IKK с последующим фосфорилированием I κ B и расщеплением I κ B протеосомой; в) перемещение димера p50/ RELA (NF- κ B) в клетку.

2 – а) взаимодействие пептидогликана бактерий с NOD2 –подобным рецептором; б) фосфорилирование IKK с последующим расщеплением I κ B протеосомой; в) перемещение димера p50/ RELA (NF- κ B) в клетку.

3– неканоническая активация (альтернативный путь): а) стимулирование ЛПС клеток воспаления; б) активация цитокиновых рецепторов *TNF* (*CD40L*, *LT α* , *LT β*) на поверхности эпителиальных клеток [141]; в) сигналы от рецепторов *TNF* объединяет *NF- κ B*-индуцирующая киназа (*NIK*), которая фосфорилирует *IKK α* ; г) фосфорилирование молекулы *p100*, д) в результате происходит протеосомная деградация домена и активация димера *p52/RelB*, который транслоцируется в ядро и активирует транскрипцию *NF κ B*.

Активация ядерного фактора каппа-B (*NF κ B*) приводит к увеличению производства воспалительных цитокинов, таких как интерлейкин 1 β (*IL1 β*), *IL6*, *IL8*, фактор некроза опухоли альфа (*TNF α*), антиапоптотических белков и индуцибельных ферментов (*ЦОГ – 1*, *iNOS*) (рисунок 3).



Рисунок 3. Роль *NF- κ B* в развитии заболеваний пищевода

В исследовании YP. Fan и соавт. было продемонстрировано увеличение уровня активированного *NF- κ B* в биоптатах пищевода у пациентов с ГЭРБ, пищеводом Баррета и аденокарциномой пищевода. Другим эффектом ЛПС является повышение уровня фермента индуцибельной синтазы оксида азота (*iNOS*). Избыточная продукция *iNOS* снижает базальный тонус нижнего пищеводного сфинктера [73], который является одним из компонентов антирефлюксного барьера [15]. S. Calatayud и соавт. на грызунах показали, что

увеличение введения ЛПС задерживают опорожнение желудка, вследствие чего увеличивается количество желудочного содержимого, попадающего в пищевод [63]. Замедление эвакуации из желудка происходит вследствие блокирования селективного ингибитора ЦОГ-2 - NS 398 [83]. Известно также, что ЦОГ-2 экспрессируется в клетках эпителия у пациентов с пищеводом Баррета, и ее экспрессия возрастает при аденокарциноме пищевода, наряду с повышенной секрецией iNOS [147]. YP. Fan и соавт. в своем исследовании продемонстрировали дозозависимое влияние ЛПС на снижение базального тонуса не только НПС, но и внутреннего анального сфинктера, вероятно, связанное с увеличением экспрессии iNOS, а также увеличение расслабления при неадренергической, нехолинергической стимуляции [73]. Эффект ЛПС на базальный тонус пилорического сфинктера не наблюдался, но вызывал нарушение релаксации при неадренергической, нехолинергической стимуляции и увеличение сокращения гладких мышц посредством активации мускариновых рецепторов. Таким образом, активация NFκB способна влиять на два механизма, определяющих развитие патологического рефлюкса: тонус НПС и повышение внутрижелудочного давления.

Активация NF-κB приводит к дальнейшей продукции медиаторов воспаления. В различных исследованиях было продемонстрировано, что при рефлюкс - эзофагите и пищеводе Баррета увеличивается продукция провоспалительных цитокинов, таких как IL-4 и IL-6 [83, 104]. При рефлюкс - эзофагите, пищеводе Баррета и аденокарциноме пищевода отмечено увеличение продукции IL-1b и IL-8 [92].

Медиаторы воспаления способны оказывать влияние на сокращение мышц пищевода [110]. Кислый рефлюктат, попадая в пищевод, индуцирует образование факторов активации тромбоцитов (ФАТ) в слизистой оболочке пищевода. ФАТ затем высвобождаются из слизистой оболочки и активируют круговую мышцу, в результате чего происходит выработка IL-6, который в свою очередь приводит к увеличению производства H_2O_2 , индуцирующего производство IL-1β [69].

H_2O_2 и IL -1 β способны индуцировать выработку ФАТ и IL-6, каждый из которых, как известно, подавляет нейрогенные сокращения мышц за счет ингибирования высвобождения ацетилхолина и приводит к воспалению и моторным нарушениям пищевода. IL -1 β , IL -6, и H_2O_2 также независимо друг от друга могут влиять на сокращение мышц пищевода [64, 65, 70]. При этом L. Cheng и соавт. продемонстрировали, что при непосредственном воздействии соляной кислоты (HCl) на мышцу, ее сокращение не изменяется, что свидетельствует о том, что для возникновения моторных нарушений необходимы медиаторы воспаления [69].

Понимание роли микробиоты в развитии и прогрессировании заболеваний пищевода, представляет большой интерес с точки зрения поиска новых терапевтических возможностей лечения ГЭРБ, пищевода Баррета, а также канцерпревенции. В этом свете, особого внимания заслуживает изменения микробиоты при приеме антисекреторных препаратов, а также пре- и пробиотических комплексов.

И если в литературе можно встретить немногочисленные исследования, касающиеся изменения микробиоты пищевода на фоне приема ИПП, то данных о влиянии пробиотиков на микробный состав пищевода мы не встречали.

I. Amir и соавт. [52] одними из первых продемонстрировали влияние приема ИПП в течение 8 недель на микробиоту, выявив значительные различия в микробном составе образцов биопсии слизистой пищевода до и после лечения. На фоне антисекреторной терапии в дистальном отделе пищевода наблюдалось достоверное увеличение бактерий семейства *Lachnospiraceae* (порядок *Clostridiales*, класс *Clostridia*, тип *Firmicutes*) и неклассифицируемых кластридиальных семейств (порядок *Clostridiales*, класс *Clostridia*, тип *Firmicutes*) и уменьшение *Methylobacteriaceae* (порядок *Rhizobiales*, класс *Alphaproteobacteria*, тип *Proteobacteria*).

Особого внимания заслуживает также исследование KL. Blackett и соавт, которые продемонстрировали повышение продукции некоторых провоспалительных цитокинов при изменении состава микробиоты пищевода

[57]. Например, у пациентов с ГЭРБ и пищеводом Баррета значительное снижение числа основных видов бактерий рода *Fusobacterium* (семейство *Fusobacteriaceae* порядок *Fusobacteriales*, класс *Fusobacteria*, тип *Fusobacteria*) и *Lactobacillus* (семейство *Lactobacillaceae*, порядок *Lactobacillales*, класс *Bacilli*, тип *Firmicutes*) в сочетании с повышением числа бактерий рода *Campylobacter* (семейство *Campylobacteraceae*, порядок *Campylobacterales*, класс *Epsilonproteobacteria*, тип *Proteobacteria*) сопровождалось повышенной продукцией IL-18. Последний в свою очередь, повышает активность естественных киллеров, стимулирует клеточный апоптоз, что приводит к развитию Th1-, и Th2- опосредованного иммунного ответа. IL-18, ИФН- γ индуцирующий фактор, играют важную роль в клеточной пролиферации при развитии аденокарциномы пищевода [54].

Современные данные о микробиоте пищевода у здоровых лиц, больных с ГЭРБ и пищеводом Баррета, а также влияние приема ИПП на бактериальный состав пищевода представлены в таблице 2.

Таблица 2. Микробиота пищевода при нормальной эндоскопической картине, у больных ГЭРБ и пищеводом Баррета до и после лечения ингибиторами протонной помпы [35]

	N. Liu и соавт. (2013)	I. Amir и соавт. (2014)	DE. Freedberg и соавт. (2014)
	До лечения	После лечения	После лечения
Нормальная эндоскопическая картина пищевода	Proteobacteria (49%): Citrobacter (4%) Haemophilus (4%) Helicobacter (4%) Escherichia (4%) Firmicutes (40%): Streptococcus (21%) Klebsiella (10%) Gemella (6%) Eubacterium (5%) Granulicatella (4%) Bulleidia (3%) Bacteroidetes (8%): Prevotella (3%) Actinobacteria (3%)	Firmicutes: ↑Clostridiaceae ↑Clostridia ↑Lachnospiraceae ↑Gemellales ↑Lactobacillales Actinobacteria: ↑ Micrococcaceae ↑Actinomycetaceae Proteobacteria : ↓ Comamonadaceae	Firmicutes: ↑Lachnospiraceae ↑Clostridiales Proteobacteria : ↑ Comamonadaceae
ГЭРБ	Proteobacteria (43%): Pasteurella (10%), Haemophilus (9%), Neisseria (4%), Helicobacter (3%), Bacillus (3%), Firmicutes (33%): Streptococcus (20%) Klebsiella (9%), Veillonella (3%) Bacteroidetes (10%): Prevotella (5%) Fusobacteria (10%) Actinobacteria (2%) TM7 (2%)		
Пищевод Баррета	Firmicutes (55%): Streptococcus (11%) Gemella (4%) Lactobacillus (4%) Dialister (3%) Proteobacteria (20%): Helicobacter (4%) Neisseria (4%) Actinobacillus (4%) Bacteroidetes (14%): Prevotella (12%), Fusobacteria (9%): Veillonella (19%) Actinobacteria (2%)		

В этой связи представляется интересным исследование микробиоты пищевода и желудка у пациентов с ГЭРБ, а также ее изменения на фоне приема ингибиторов протонной помпы и пробиотиков.

Непрекращающийся рост числа пациентов с ГЭРБ, высокая вероятность рецидивирования заболевания после проведенного лечения, обуславливают

необходимость изучения клинических, морфологических и функциональных особенностей у таких больных для персонализированного подхода к их лечению.

1.5. Проблема рецидивирования гастроэзофагеальной рефлюксной болезни

Безусловно, в настоящее время достигнуты значительные успехи в диагностике и лечении ГЭРБ, однако рецидивирование как клинических, так и эндоскопических проявлений заболевания остается до сих пор нерешенной проблемой. Ряд исследований продемонстрировали, что рецидив ГЭРБ в течение 6 месяцев без поддерживающей терапии наблюдается в 50 - 100% случаев [28, 33, 66, 85, 111, 134]. Е. Yamamoto и соавт. выявили высокий риск клинического и эндоскопического рецидива у детей с эрозивным эзофагитом после проведенного лечения. Рецидивирование эндоскопических проявлений ГЭРБ наблюдалось у 45% пациентов с клиническим рецидивом при наблюдении в течение 25,7 месяцев [145].

Метаанализ 5 рандомизированных исследований продемонстрировал, что основными факторами, связанными с рецидивированием ГЭРБ являются тяжелая степень рефлюкс – эзофагита до начала лечения, молодой возраст, высокая частота регургитации [66].

Исследование, проведенное К. Fujimoto и соавт. в Японии выявило, что риск рецидива рефлюкс - эзофагита после назначения ИПП составил 11% [70]. При этом авторы выделили основные факторы риска рецидивирования, к которым относились степень тяжести ГЭРБ (степень С и D) до лечения, ГПОД, Н. pylori – негативный статус пациента, отсутствие атрофии слизистой оболочки желудка, женский пол и рост менее 150 см. Также было отмечено, что к рецидиву заболевания приводит снижение давления НПС.

Авторы другого исследования считали, что прогностическим фактором рецидивирования ГЭРБ является тяжесть симптомов заболевания до начала

лечения. Корреляции между H. pylori – статусом больных и риском рецидива в данной работе не было выявлено.

Учитывая рецидивирование ГЭРБ, больные нуждаются в выборе наиболее эффективной тактики лечения. Одной из работ, посвященных этому вопросу, является исследование A. Nagahara и соавт, которые продемонстрировали, что терапия по требованию является недостаточной, и пациенты с рецидивирующим ГЭРБ должны ежедневно принимать ИПП в качестве поддерживающей терапии [102].

Большой опыт диагностики и лечения больных накоплен в клинике пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В. Х. Василенко. Собственные исследования демонстрируют, что ГПОД в 1,9 раз повышает риск рецидива НЭРБ и в 3 раза чаще ухудшает течение НЭРБ [5]. Влияние ГПОД на рецидивирование более тяжелых форм ГЭРБ выявлено не было. Также было выявлено, что мужской пол, несоблюдение рекомендаций по диете, курение являются факторами риска рецидивирования эрозивного эзофагита.

1.6. Современные представления о систематике бактерий

В настоящее время под систематикой бактерий понимают их распределение согласно определенной степени однородности, по группам, которые называются таксонами, а также установление родственных связей между ними.

Все виды бактерий идентифицированы в Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (справочник Берджи по бактериологической систематике), впервые опубликованный в 1923 году [55]. А одним из способов понимания филогенетического состава микробиоты и определения ассоциации отдельных таксонов с клиническим статусом пациента является изучение нуклеотидных последовательностей, что и нашло применение в методе ПЦР и секвенировании рРНК, позволившем создать уникальный каталог человеческих геномных вариаций (HarMap; Human Variome Project) [13].

Все прокариоты в настоящее время разделены на два домена: *Archaea* и *Bacteria*. В первый входит порядка 5 типов (отделов), во второй – 30. Типы (phylum) в свою очередь делятся на классы (class), далее на порядки (ordo), семейства (familia), роды (genus), виды (species). В настоящее время основной таксономической единицей является вид, однако, в нашей работе также, как и в других, при описании микробиоты пищевода и желудка мы для большего удобства используем микробные типы и семейства.

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн 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) (директор клиники – академик РАН Ивашкин В.Т.) с сентября 2015 года по февраль 2017 года. В исследование были включены пациенты, страдающие гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, проходившие амбулаторное или стационарное лечение, а также здоровые добровольцы.

Изучение микробиоты пищевода и желудка с помощью метода секвенирования 16S рибосомальной РНК проводилось в ФГБУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН (заведующая лабораторией постгеномных исследований к.м.н. Кудрявцева А.В.).

В исследование были включены пациенты с доказанной клинически, эндоскопически и/или с помощью 24- часовой рН- импедансометрии эрозивной и неэрозивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, соответствующие критериям включения. 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, подписавшие информированное согласие. В группу здоровых были включены лица 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 пациентов:

1. Пациент способен понимать требования исследования, подписал письменное информированное согласие, а также согласился на все ограничения, налагаемые в ходе исследования
2. Женщины и мужчины в возрасте от 18 до 69 лет, включительно

3. Наличие в анамнезе симптомов изжоги не менее 1 раза в неделю на протяжении 12 месяцев до скрининга
4. Наличие эрозивного или неэрозивного эзофагита по результатам проведённой ЭГДС
5. Отрицательные результаты анализов крови на ВИЧ, сифилис и гепатиты В и С (HBsAg; anti-HCV total)

Критерии не включения:

1. Нежелание пациента участвовать в исследовании или невозможность собственноручно подписать информированное согласие
2. Структурные аномалии гастроинтестинального тракта
3. Варикозно-расширенные вены пищевода
4. Пищевод Баррета
5. Лекарственно - индуцированный эрозивный эзофагит
6. Воспалительные заболевания кишечника
7. Активный дивертикулит в любом отделе пищеварительной системы
8. Пептические язвы
9. Первичные нарушения моторики пищевода или желудка
10. Гастропарез
11. Опухоли гастроинтестинального тракта
12. Гастроинтестинальная обструкция на любом уровне
13. Хирургические вмешательства на пищеварительном тракте в анамнезе
14. Желчнокаменная болезнь, калькулёзный холецистит в стадии обострения, хронический панкреатит в стадии обострения
15. Неврологические или психиатрические заболевания, препятствующие участию пациента в исследовании
16. Пациенты, страдающие алкоголизмом или наркоманией
17. Беременность, период грудного вскармливания

18. Тяжелые заболевания печени (гепатиты различного генеза, цирроз печени, повышение АСТ, АЛТ более, чем в 5 раз), печёночная недостаточность
19. Тяжелые заболевания почек, почечная недостаточность
20. Любое хирургическое вмешательство в течение 14 дней до включения в данное исследование
21. Известные аллергические реакции на местные анестетики, ингибиторы протонной помпы и пробиотики
22. Инсулинзависимый сахарный диабет
23. Нарушения сердечного ритма (мерцательная аритмия, пароксизмальная тахикардия, частая желудочковая экстрасистолия, полная атриовентрикулярная блокада), аневризма аорты, выраженные коагулопатии
24. Заболевания, при которых противопоказана стимуляция блуждающего нерва и введение зондов
25. 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. Части больных было выполнено морфологическое исследование биоптатов слизистой оболочки пищевода.

14 пациентам основной группы был выполнен забор пищеводной и желудочной слизи для изучения микробиоты пищевода и желудка с помощью метода секвенирования 16S рРНК. После окончания восьминедельного курса лечения ИПП и ИПП в комбинации с пробиотиками обследуемым также вновь проводилось определение микробиоты пищевода и желудка.

2.2. Характеристика используемых методов исследования

2.2.1. Клиническое обследование пациентов

Клиническое обследование было проведено всем пациентам и включало в себя:

1. Сбор жалоб и анамнеза заболевания
2. Объективный осмотр
3. Заполнение культурально адаптированного и валидизированного опросника клиники Мэйо, опросника FSSG (Приложение 2) [71, 86, 96]

2.2.2. Лабораторные методы исследования

Всем пациентам проводились общеклинические методы исследования, для исключения состояний, препятствующих продолжению участия пациента в исследовании:

- 1) Клинический анализ крови с определением уровня гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, лейкоцитарной формулы, тромбоцитов, СОЭ, гематокрита.
- 2) Биохимический анализ крови с определением уровней общего белка, билирубина, глюкозы, аспарагинаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), щелочной фосфатазы, креатинина, азота мочевины, гаммаглутамилтранспептидазы
- 3) Анализ кала на скрытую кровь

2.2.3. Электрокардиография

Всем больным проводилась электрокардиография (ЭКГ) для исключения нарушений сердечного ритма и проводимости (мерцательная аритмия, пароксизмальная тахикардия, частая желудочковая экстрасистолия, полная атриовентрикулярная блокада), ишемических изменений миокарда, которые являются противопоказанием для введения зондов, способных стимулировать блуждающий нерв.

2.2.4. Эзофагогастродуоденоскопия

ЭГДС проводилась в отделении эндоскопии университетской клинической больницы №2 ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Минздрава России (Сеченовский Университет) (заведующий отделением к.м.н. Павлов П.В.) гибким эндоскопом «Pentax EG29-i10 HD+» всем пациентам, включенным в исследование.

В ходе ЭГДС оценивались состояние слизистой оболочки пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки, локализация, размеры и выраженность воспалительных и эрозивно - язвенных изменений, а также проводился забор биопсийного материала из пищевода для дальнейшего морфологического исследования. Забор биоптатов проводился с помощью щипцов «Olympus FB-25K-1», с последующим фиксированием в 10% растворе формалина, забуференном по Лилли. Кроме того, во время исследования проводилась визуальная оценка состояния нижнего пищеводного сфинктера, выявление наличия грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, желчи в содержимом желудка.

Характер выраженности изменений слизистой оболочки пищевода при ЭГДС оценивался согласно Лос – Анджелесской классификации [16, 53, 97]:

стадия А — наличие одного (или более) участка поврежденной слизистой оболочки, расположенного на вершине складки, размером до 5 мм;

стадия В — наличие одного (или более) участка поврежденной слизистой оболочки, расположенного на вершине складки, размером более 5 мм;

стадия С — наличие одного (или более) участка поврежденной слизистой оболочки, распространяющегося на СО между двумя (или более) складками, но захватывающего менее 75% окружности пищевода;

стадия D — наличие одного (или более) участка поврежденной слизистой оболочки, захватывающего более 75% окружности пищевода.

Автор выражает благодарность к.м.н. Павлову П.В. (зав. отделением эндоскопии), к.м.н. Конькову М.Ю. (врач- эндоскопист) за помощь в проведении работы.

2.2.5. Морфологическое исследование

Морфологическое исследование проводилось 38 пациентам на кафедре патологической анатомии ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Биоптаты из пищевода были получены при проведении ЭГДС. Забор фрагментов проводился из 4 точек, расположенных на 3, 6, 9, 12 часах по условному циферблату, выше Z- линии на 2 см. Кроме того, биопсия проводилась из участков, подозрительных в отношении метаплазии по желудочному и/или кишечному типу.

Морфологический диагноз рефлюкс - эзофагита основан на сочетании комплекса гистологических изменений, каждый из которых в отдельности не является патогномоничным [74]. В норме слизистая оболочка пищевода выстлана многослойным плоским эпителием. Базальный слой эпителия включает 3 - 5 слоёв клеток. Над ним расположен промежуточный слой шиповатых клеток и функциональный (поверхностный) слой. Клетки двух верхних слоёв содержат гликоген, их мембраны содержат терминальные функциональные группы, обеспечивающие резистентность эпителия. Собственная пластинка слизистой оболочки образует соединительнотканые сосочки, устремлённые в эпителиальный пласт. Высота сосочков равна примерно половине высоты эпителиального пласта. В собственной пластинке встречаются солитарные лимфоидные фолликулы и рассеянные лимфоциты. Лимфоциты могут мигрировать интраэпителиально. В этом случае виден характерный «светлый» промежуток между мембранами лимфоцита и эпителиоцита [74].

При хроническом эзофагите характерно увеличение количества слоёв базальных клеток, составляющих более 15% толщины эпителиального пласта. Воспалительный процесс вызывает гидропическую дистрофию созревающих эпителиальных клеток, вплоть до появления так называемых баллонных клеток. Одновременно с усилением пролиферации базальных клеток (пролиферативный акантоз) выявляют удлинение соединительнотканых

сосочков, которая может достигать $\frac{3}{4}$ эпителиального пласта. В увеличенных сосочках возникает эктазия венул, вследствие воспалительной гиперемии, стаза и неоангиогенеза.

Следующая гистологическая особенность рефлюкс - эзофагита - расширение межклеточных пространств в плоском эпителии (спонгиоз) [130, 138]. Разъединение межклеточных соединений объясняет появление пространств между эпителиальными клетками неправильной или круглой формы, которые могут быть обнаружены при световой микроскопии. Кислотный рефлюкс вызывает также увеличение количества воспалительных клеток, как внутри плоского эпителия, так и в строме [84, 126]. Предполагают, что расширение межклеточных пространств позволяет кислоте достичь эпителиальной базальной мембраны, тем самым привлекая воспалительную реакцию и ноцицепцию [81, 105]. Клетки воспаления, которые выявляют при рефлюкс - эзофагите, включают нейтрофилы, эозинофилы и мононуклеарные клетки. Следует отметить, что клеточная воспалительная реакция является неспецифической гистологической особенностью, так как воспаление пищевода также может возникать независимо от рефлюксной болезни.

Нейтрофильная воспалительная инфильтрация может быть при эрозиях и язвах любой природы, в том числе непептической. Эозинофильная воспалительная инфильтрация указывает на развитие локального иммунного ответа по гуморальному типу.

Таким образом, для морфологической верификации ГЭРБ важно определить сочетание таких признаков, как пролиферативные изменения плоского эпителия, например, базально - клеточный слой гиперплазии, удлинение соединительнотканых сосочков и расширение межклеточных пространств в плоском эпителии, но также и интраэпителиальную воспалительную клеточную инфильтрацию эозинофилами, нейтрофилами и мононуклеарными клетками.

При морфологическом исследовании биоптатов слизистой оболочки оценивались активность и степень выраженности воспаления, наличие

дистрофии, некроза, гиперплазии эпителия, сосудистые изменения, утолщение сосочкового слоя, наличие инфильтрации клеточного состава субэпителиального слоя, клеточный состав собственной пластинки слизистой, метаплазия и дисплазия эпителия.

В зависимости от количества полиморфно - ядерных лейкоцитов в воспалительном инфильтрате выделяют три степени активности воспаления [16]:

I степень – незначительная инфильтрация нейтрофилами собственной пластинки слизистой оболочки пищевода.

II степень – выраженная нейтрофильная инфильтрация всей толщи собственной пластинки слизистой или с вовлечением поверхностных слоев.

III степень – при выявлении очагов некроза и микроабсцессов.

При выявлении в микропрепаратах кишечной метаплазии пациент исключался из исследования.

Автор выражает благодарность за помощь в проведении работы к.м.н. Пономареву А.Б. (доцент кафедры патологической анатомии).

2.2.6. Исследование двигательной функции пищевода (манометрия пищевода высокого разрешения)

Исследование двигательной функции пищевода с помощью манометрии пищевода высокого разрешения (high resolution manometry, HRM) было проведено всем пациентам, включенным в исследование. В настоящем исследовании использовался прибор Solar GI (специализированное программное обеспечение Medical Measurements Systems (MMS), The Netherlands), представляющий собой 22- канальный водно - перфузионный катетер. Принцип метода основан на регистрации сокращения стенок пищевода посредством столба жидкости с использованием водно – перфузионного катетера. Катетер состоит из нескольких трубочек, открывающихся каналами на расстоянии 1 см друг от друга, в которых непрерывно циркулирует

жидкость, нагнетаемая водяной помпой. Каждый канал соединен с датчиком, фиксирующим давление и передающим данные на записывающий модуль.

За 48 часов до начала исследования пациентам были отменены препараты, влияющие на моторную функцию пищевода: нитраты, седативные, антихолинергические препараты, прокинетики, блокаторы кальциевых каналов [3, 40, 43, 49].

Исследование проводилось натощак. Введение катетера осуществлялось трансназально в положении больного сидя, при необходимости с предварительной местной анестезией полости носа 10% раствором лидокаина [3, 40, 43, 49]. После установки катетера больной принимал горизонтальное положение и через 2-5 минут после стабилизации моторики оценивалось давление покоя НПС и ВПС.

После регистрации давления покоя сфинктеров пациенту оценивали расслабление НПС и ВПС в ответ на влажный глоток и перистальтический комплекс. Для этого больному предлагалось выпить 10 глотков воды объемом 5 мл (рисунок 4).

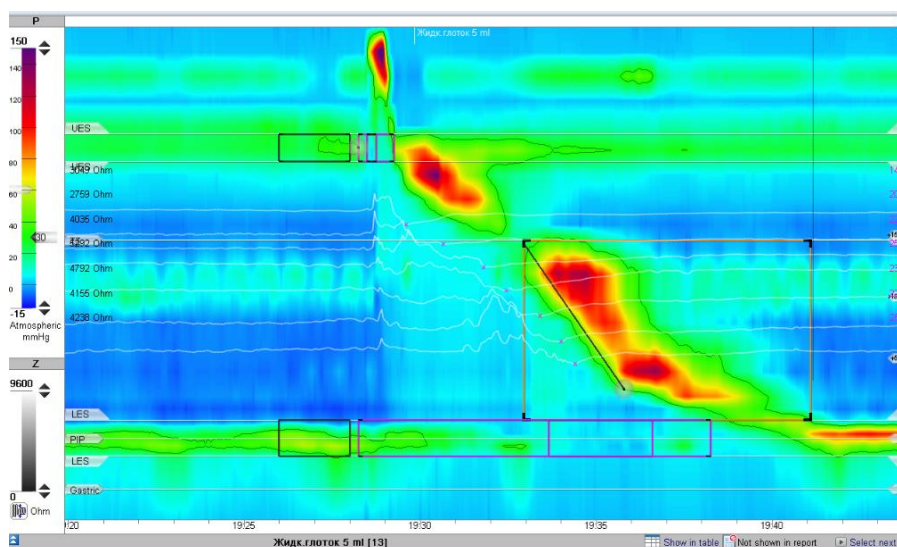


Рисунок 4. Расслабление НПС и ВПС в ответ на влажный глоток по данным манометрии пищевода высокого разрешения

Использование манометрии пищевода высокого разрешения позволяет изучить количественные показатели давления сфинктеров, перистальтической активности пищевода и тонуса его стенок (таблицы 3, 4) [43, 67, 91].

Таблица 3. Нормальные показатели по данным манометрии пищевода высокого разрешения [21, 82, 90, 106]

Показатель	Норма	
	НПС	ВПС
Давление покоя (мм рт.ст.)	10 - 35	46 – 81
Суммарное давление расслабления (мм рт.ст)	<15	-

Таблица 4. Нормальные показатели моторики грудного отдела пищевода по данным манометрии высокого разрешения [21, 90]

Показатель	Норма
Время сокращения проксимального сегмента (DL) (сек)	>4,5
Длина переходной зоны (TZ- break) (см)	до 5
Интенсивность сокращения дистального сегмента (DCI) (мм рт.ст.*с*см)	450 - 8000

Для характеристики сокращений дистального сегмента пищевода и оценки моторных нарушений в настоящее время применяется Чикагская классификация двигательных нарушений пищевода третьего пересмотра (таблицы 5, 6).

**Таблица 5. Характеристика сокращения дистального сегмента по
Чикагской классификации (v.3.0) [21, 88]**

Сила сокращения	Показатель DCI
Интактное сокращение (норма)	450-8000
Отсутствие перистальтики	< 100
Ослабленная перистальтика	100-450
Гиперконтрактивное сокращение	>8000
Паттерн сокращения	Показатель
Преждевременное	DL<4.5с
Разъединённое	TZ-break >5см

**Таблица 6. Чикагская классификация нарушений моторики
пищевода**

Ахалазия	Тип I Тип II Тип III Нарушение проходимости кардии
Заболевания, связанные с нарушением моторики	Диффузный эзофагоспазм Чрезмерная интенсивность сокращений DCI >8000 («Отбойный молоток») (рисунок 5) Гипокинезия/отсутствие сокращений (рисунок 6)
Изменения перистальтики	Нарушение перистальтики с большими разрывами Нарушение перистальтики с малыми разрывами Незавершенная перистальтика Ускоренные сокращения Гиперкинезия грудного отдела пищевода («пищевод щелкунчика»)

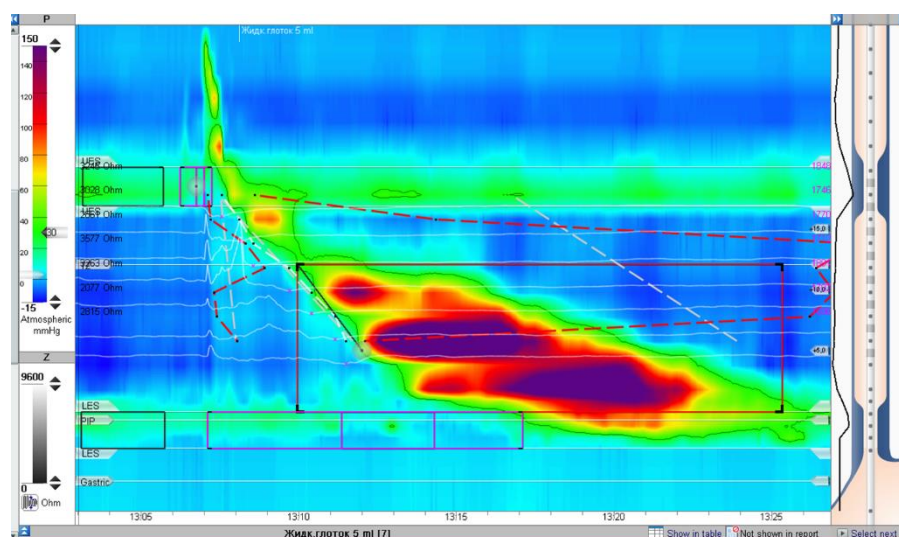


Рисунок 5. Чрезмерная интенсивность сокращений DCI >8000 («Отбойный молоток», пищевод Jackhammer)

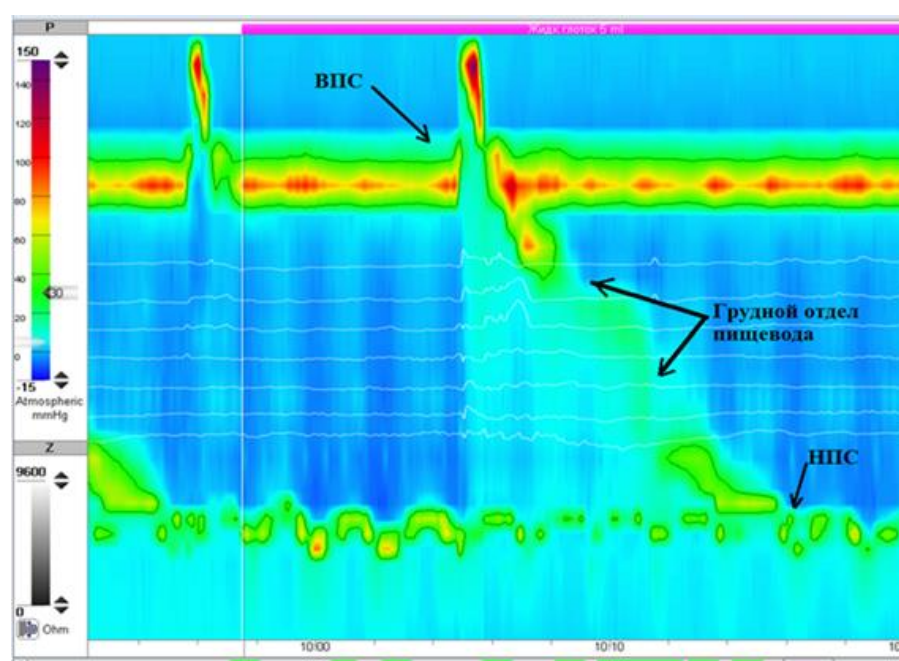


Рисунок 6. Сниженная интенсивность сокращения в дистальном отделе пищевода

Кроме того, при помощи манометрии пищевода можно обнаружить эпизоды проходящих расслаблений НПС, являющихся одной из причин возникновения ГЭР (рисунок 7).

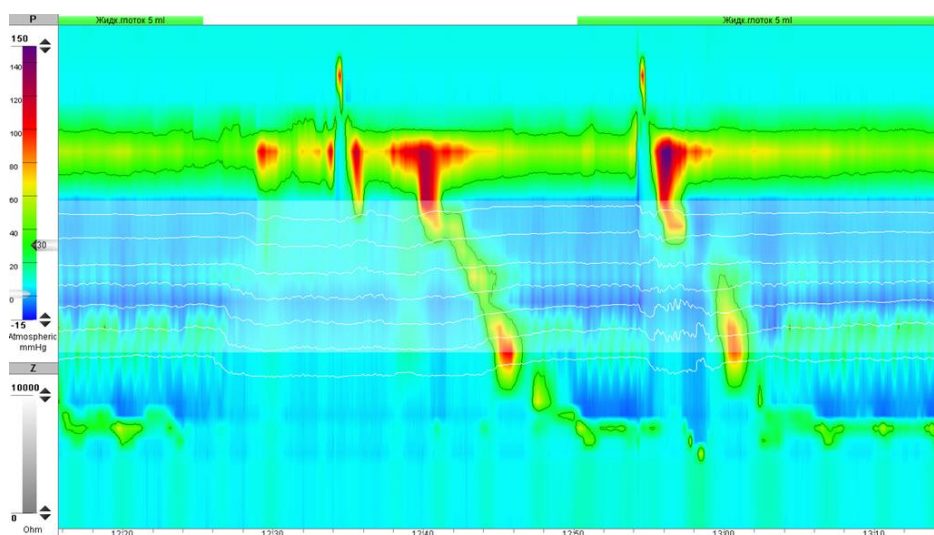


Рисунок 7. Преходящие расслабления нижнего пищеводного сфинктера

Манометрии пищевода также позволяет идентифицировать ГПОД и точно определить ее размеры (рисунок 8).

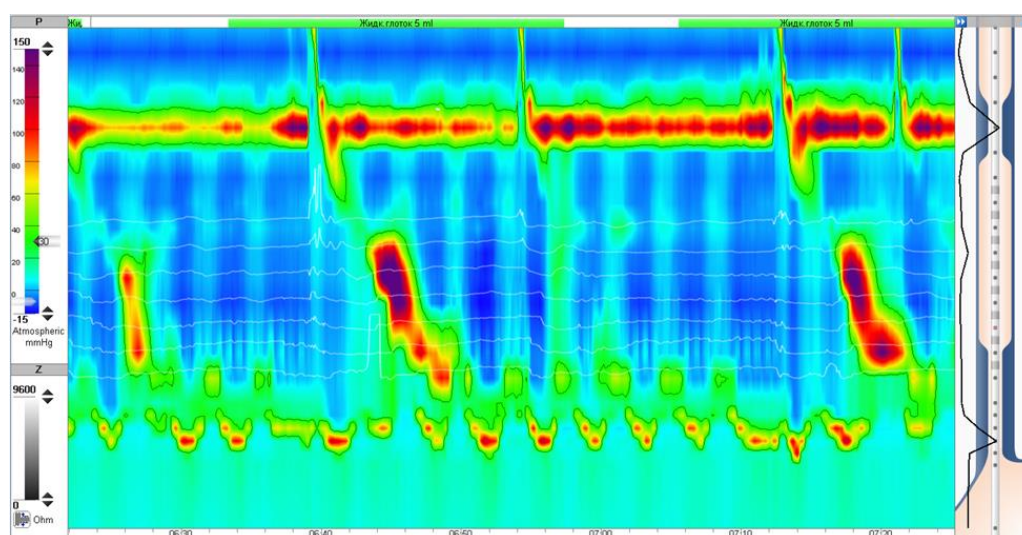


Рисунок 8. Грыжа пищеводного отверстия диафрагмы по данным манометрии пищевода высокого разрешения

Автор выражает благодарность за помощь в проведении работы к.м.н. Стороной О.А. (врач отделения функциональной диагностики).

2.2.7. 24 - часовая рН- импедансометрия

Всем пациентам, включенным в исследование, проводилась 24- часовая рН- импедансометрия с использованием импедансоацидомонитора ИАМ-01 "Гастроскан-ИАМ" (торговое наименование «Гастроскан-ИАМ») и амбулаторного рН- рекордера MMS исполнения MMS Ohmega, MMS Orion II. Согласно критериям включения и невключения, больных, которым было противопоказано проведение 24- часовой рН- импедансометрии, не было.

24- часовая рН – импедансометрия является основным методом диагностики гастроэзофагеального рефлюкса и позволяет регистрировать эпизоды жидких, газовых и смешанных рефлюксов независимо от рН рефлюктата [23, 62, 68]. Применение этого метода позволяет также определять продолжительность химического клиренса, связь основных симптомов ГЭРБ с эпизодами рефлюксов. Только при помощи 24- часовой рН - импедансометрии можно доказать, что такие жалобы у пациентов, как кашель, осиплость голоса, першение в горле, являются внепищеводными проявлениями ГЭРБ.

Метод основан на регистрации изменений сопротивления (импеданса) переменному току в пищеводе при попадании в него жидкого или газообразного рефлюктата [124]. Катетер для проведения рН- импедансометрии представляет собой трубку, являющуюся изолятором (т.е. не способную проводить электрический ток) с семью парами металлических электродов, расположенных на расстоянии 2 см друг от друга [39, 48]. Кроме того, на катетере есть еще 3 датчика, которые определяют рН среды. Расположение датчиков позволяет нам регистрировать сопротивление на высоте 3, 5, 7, 9, 15 и 17 см от НПС, а также рН в пищеводе, кардиальном отделе и теле желудка. Проведение исследования в течение 24 - часов дает возможность оценить общее количество рефлюксов за сутки, в вертикальном и горизонтальном положении, их связь с приемом пищи, экспозицию болюса, клиренс пищевода, а также изменения внутрипросветного рН в пищеводе и желудке [120].

Методика проведения 24- часовой рН- импедансометрии

Исследование проводилось натощак, у пациентов, не получающих антисекреторную терапию.

Введение катетера осуществлялось интраназально в положении сидя, по желанию пациента под местной анестезией (интраназально) аэрозолем 10% раствора лидокаина.

Для правильного расположения датчиков (первый электрод, измеряющий сопротивление, должен располагаться выше НПС на 2 см) использовалось расстояние до НПС, измеренное у каждого пациента при проведенной ранее манометрии пищевода [3, 101].

После установки катетера и его фиксирования на коже пациента лейкопластырем на грудную клетку крепился накожный электрод сравнения. После этого катетер присоединялся к регистрирующему блоку.

Каждый пациент был информирован о своих действиях в течение всего периода исследования: вести привычный образ жизни, есть 3 раза в день, не пить воду между приемами пищи, в течение дня не принимать горизонтального положения, вести дневник с указанием времени начала и окончания приема пищи, появляющихся симптомов, сна.

После окончания исследования, катетер извлекали из пациента, а данные с аппарата переносились на персональный компьютер с дальнейшей обработкой полученных результатов.

Анализ результатов рН- импедансометрии

Проводился визуальный анализ кривых импедансометрии и рН - метрии на графиках, который включал в себя определение состава болюса и направление его движения. При отсутствии рефлюксов и глотков импедансная кривая представляет собой базальную линию с уровнем $Z=800-2400$ Ом [48]. Чашеобразное снижение импедансной кривой до уровня $370-1640$ Ом на графике наблюдается при глотке жидкости или жидком рефлюксе, в то время как при попадании газового болюса регистрируется скачкообразное возращание кривой выше 3000 Ом минимум в двух смежных каналах, с

обязательным уровнем импеданса более 7000 Ом в одном из них [27, 39, 48]. Во время глотка наблюдается снижение базальной кривой с проксимальных каналов в дистальном направлении, во время рефлюкса – с самого дистального канала в проксимальном направлении (рисунок 9) [133].

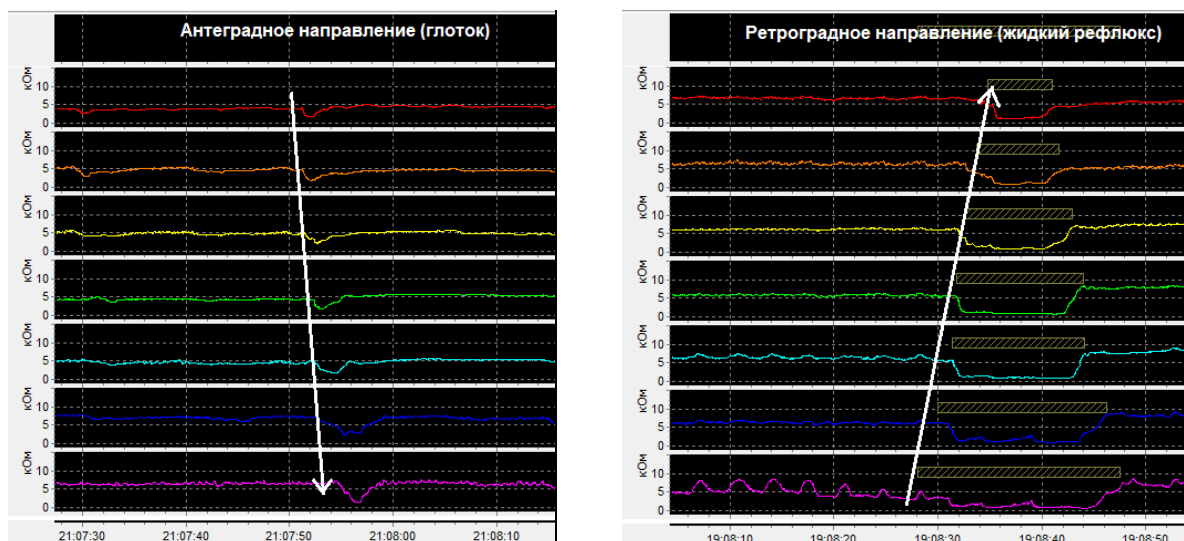


Рисунок 9. Антеградное (глоток) и ретроградное (рефлюкс) направления движения жидкого болюса в пищеводе на графике импедансометрии

При помощи импедансометрии удастся определить рефлюксы с очень небольшим по объему рефлюктатом, а также физическое состояние последнего (жидкий, газовый, смешанный) (рисунок 10). Жидкий рефлюкс идентифицируется при снижении сопротивления на 50% от базальной линии, распространяющегося ретроградно от самого дистального канала и продолжающегося не менее 3 секунд [39, 48]. Газовый рефлюкс представляет собой наоборот повышение сопротивления выше базальной линии, также распространяющееся ретроградно от самого нижнего канала. Кроме того, возможны смешанные рефлюксы, которые представляют собой повышение импедансной кривой (газовый рефлюкс), происходящее непосредственно перед жидким рефлюксом или во время него.

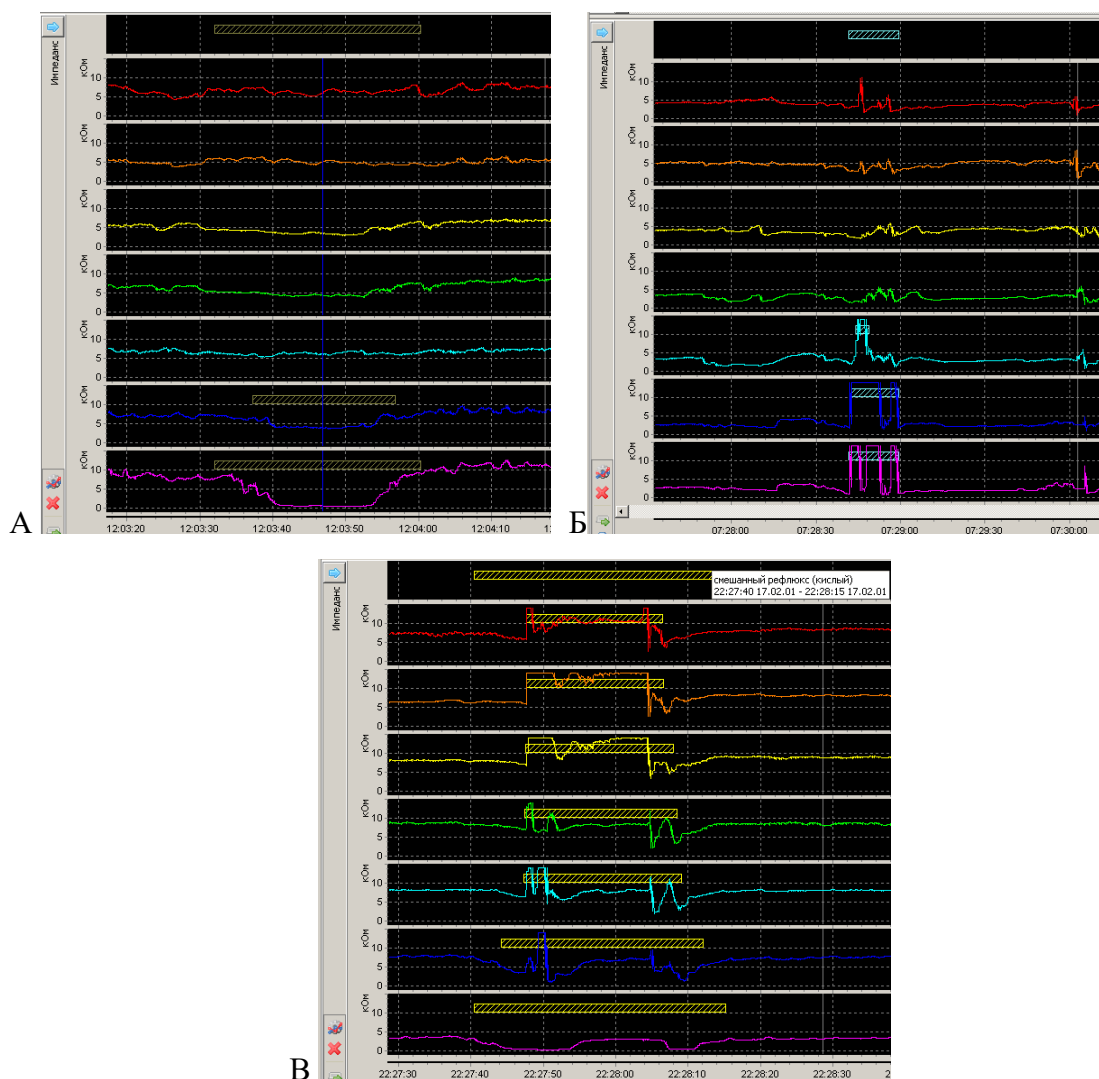


Рисунок 10. Графики импедансометрии, демонстрирующие жидкий (А), газовый (Б) и смешанный (В) рефлюксы

Наличие на катетере 3 датчиков, регистрирующих рН, один из которых располагается на 5 см выше НПС, позволяет оценивать уровень кислотности зафиксированных на импедансной кривой рефлюксов (рисунок 11) [6, 41].

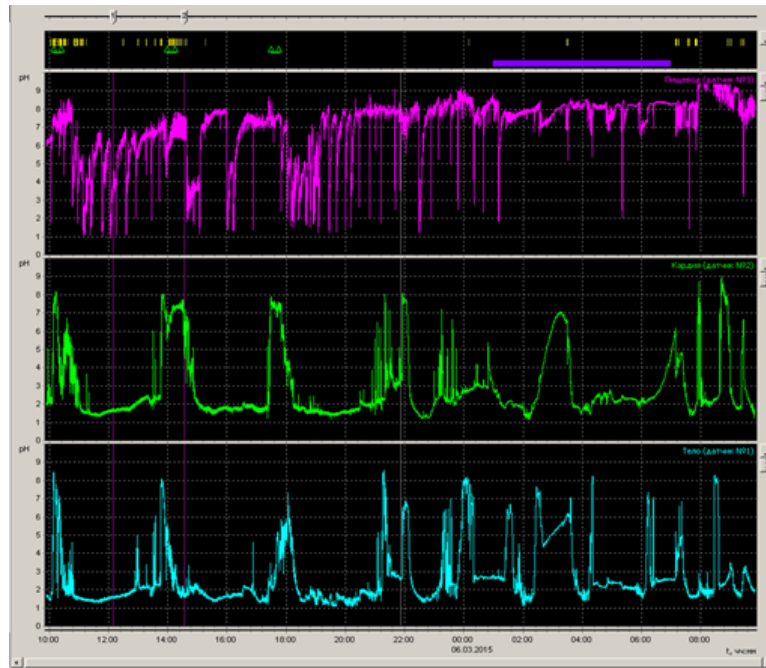


Рисунок 11. График рН- метрии, демонстрирующий многочисленные кратковременные кислые рефлюксы (рН менее 4) в пищевод в течение дня, продолжительные (до 30 минут), связанные с приемом пищи, тенденцию к гиперацидности, а также непродолжительные дуоденогастральные рефлюксы

Согласно Португальскому консенсусу по уровню кислотности рефлюксы были разделены на кислые ($\text{pH} < 4$), слабокислые ($4 < \text{pH} < 7$), слабощелочные ($\text{pH} > 7$) и свехрефлюксы (кислый рефлюкс, возникший повторно когда $\text{pH} < 4$ в пищеводе) [122]. Применение рН - импедансометрии позволяет также зафиксировать эпизоды слабокислых и слабощелочных рефлюксов, которые не регистрируются по рН- метрической кривой, а распознаются только по изменениям импедансной.

Кроме того, суточная рН- метрия позволяет выявить дуоденогастральные рефлюксы в желудок (рисунок 12).

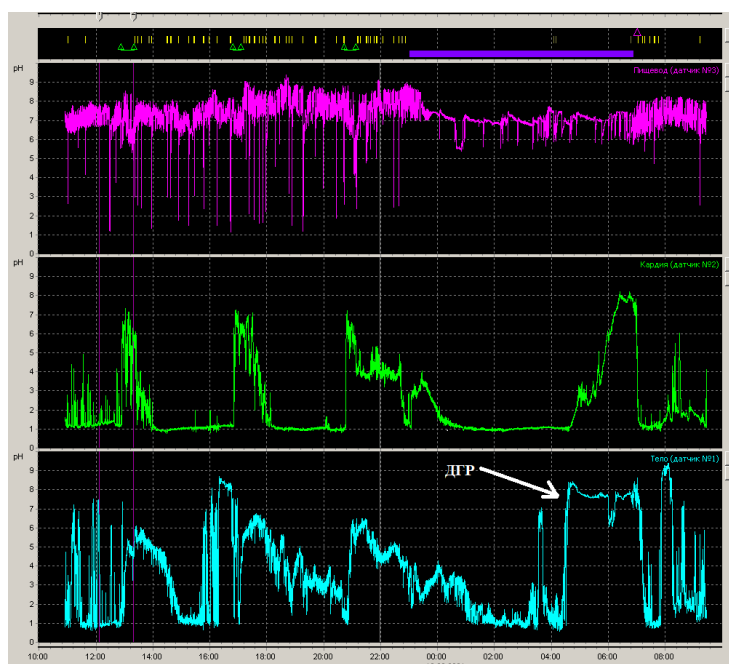


Рисунок 12. График рН- метрии, демонстрирующий ДГР в ранние утренние часы

Нормальные показатели 24- часовой рН- импедансометрии

В качестве референсных значений были использованы данные, проведенных ранее исследований S. Shay и соавт. в 2004 году и F. Zerbib и соавт. в 2005 году [121, 148] (таблицы 7 – 12).

Таблица 7. Число рефлюксов на 5 см выше НПС в зависимости от кислотности рефлюктата у здоровых лиц по данным 24 - часовой рН - импедансометрии

	Всего, п	Кислые, п	Слабокислые, п	Слабощелочные, п	Сверхреф- люксы, п
Медиана	30	18	9	0	0
25-75% интервал	18-45	7-31	6-15	0	0-1
95% интервал	До 73	До 55	До 26	До 1	До 4

Таблица 8. Число рефлюксов на 15 см выше НПС в зависимости от кислотности рефлюктата у здоровых лиц по данным 24- часовой рН-импедансометрии

	Всего, п	Кислые, п	Слабокислые, п	Слабощелочные, п	Сверхреф- люксы, п
Медиана	8	4	2	0	0
25-75% интервал	14-21	2-14	1-5	0	0
95% интервал	До 31	До 28	До 12	До 1	До 2

Таблица 9. Общее количество рефлюксов в зависимости от физического состояния рефлюктата по данным 24 - часовой рН - импедансометрии

	Жидкие, п	Газовые, п	Смешанные, п
Медиана	20	10	17
25-75% интервал	10 – 32	3 - 17	11 - 26
95% интервал	До 55	До 30	До 42

Таблица 10. Время экспозиции болюса (%) и кислоты (%) в норме в горизонтальном и вертикальном положении на высоте 5 и 15 см над краем НПС по данным 24- часовой рН – импедансометрии [121, 148]

Положение тела	Центильный интервал	Экспозиция болюса		Экспозиция кислоты
		На высоте 5 см	На высоте 15 см	На высоте 5 см
Стоя	Медиана 25-75 95	0,7 0,4-1,3 2,1	0,09 0,03-0,26 1,3	1,3 0,4-3,3 9,7
Лежа	Медиана 25-75 95	0,04 0-0,12 0,7	0 0-0,02 0,13	0,02 0-0,3 2,1
Общее	Медиана 25-75 95	0,5 0,3-0,9 1,4	0,07 0,03-0,18 0,8	1,2 0,3-2,5 6,3

Таблица 11. Экспозиция кислоты по данным 24 - часовой рН - импедансометрии

Положение тела	Центильный интервал	Экспозиция кислоты, мин	Экспозиция кислоты, %
Стоя	Медиана 25-75 95	13 6-31 51	1,5 0,8-3,6 1,3
Лежа	Медиана 25-75 95	0 0-6 30	0,1 0-1,2 5,3
Общее	Медиана 25-75 95	21 7-36 69	1,6 0,5-2,6 5,0

Таблица 12. Объемный и химический клиренс по данным 24 - часовой рН- импедансометрии

Положение тела	Центильный интервал	Объемный клиренс, с	Химический клиренс, с
Стоя	Медиана 25-75 95	11 8-13 22	30 16-45 22
Лежа	Медиана 25-75 95	10 4-13 35	42 12-149 212
Общее	Медиана 25-75 95	11 8-13 20	34 18-51 87

2.2.8. Забор пищеводной и желудочной слизи

Для забора пищеводной слизи и желудочного содержимого с целью изучения полостной микробиоты пищевода и желудка, нами был спроектирован и изготовлен специальный зонд, на который получен Патент РФ на полезную модель № 179203 с приоритетом от 08.12.2016 (приложение 1).

Зонд состоит из семи каналов, располагающихся внутри силиконовой трубки длиной 90 см, и двух надувных баллонов ближе к дистальному концу. Два 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.

Исследование проводилось в положении больного сидя. Спреем, содержащим слабый раствор анестетика, орошали корень языка с целью исключения рвотного и кашлевого рефлексов, хорошо выраженного у некоторых пациентов. Далее вводили зонд через ротовую полость в направлении корня языка по достижении гортани, просили пациента проглотить рабочий конец трубки и проводили зонд на необходимую глубину. Предварительно измерив расстояние до НПС с помощью манометрии высокого разрешения, зонд располагали так, чтобы нижний баллон был над НПС. Затем баллоны раздували, нагнетая в них шприцем 8 мл дистиллированной воды. После этого через каналы производили забор пищеводной и желудочной слизи в отдельные контейнеры для дальнейшей заморозки и передачи в лабораторию для секвенирования 16S рибосомальной РНК для оценки микробиоты.

2.2.9. Секвенирование 16S рибосомальной РНК

В настоящее время одним из методов изучения микробиома человека является секвенирование 16S рРНК, которое по сравнению со всеми остальными методами позволяет оценивать биоразнообразие того или иного органа и строить филогенетические деревья, отражающие эволюционные связи.

Предварительно замороженные образцы пищеводной слизи и желудочного содержимого помещали в контейнер со льдом на 30 минут для разморозки. Далее с помощью шпателя отбирали навеску образца массой 10 мкг и для дальнейшей гомогенизации помещали в пробирки, содержащие керамические шарики (MagNA Lyser Green Beads) [10]. После этого к образцу добавляли 500 мкл лизирующего буфера MagNA Pure Bacteria Lysis Buffer (Roche, Германия) и 20 мкл протеиназы К (QIAGEN, Германия). Пробирки с образцами инкубировали при 65 °С в течение 10 минут, затем при 95 °С еще 10

минут. Далее с помощью автоматического гомогенизатора MagNA Lyser (Roche) согласно инструкции производителя образцы гомогенизировали, а затем в течение 10 минут центрифугировали при 14000 об/мин. Полученный супернатант (400 мкл) использовался для выделения нуклеиновых кислот. Тотальную ДНК выделяли в системе для автоматического выделения нуклеиновых кислот MagNA Pure LC, используя реагенты MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I (Roche), согласно инструкции производителя. Хранение выделенной ДНК проводилось при температуре -20°C. Качественная и количественная оценка ДНК осуществлялась с использованием NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, США). Подготовка 16S метагеномных библиотек осуществлялась в соответствии с протоколом 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Illumina, США), рекомендованным Illumina для секвенатора MiSeq. Первый раунд амплификации переменных участков V3-V4 гена 16S рРНК осуществляли с использованием прямого (5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3') и обратного (5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3') праймеров [10].

Программа амплификации (с использованием амплификатора Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler, США) включала в себя ряд циклов: 1) 95 °C — 3 мин; 2) 30 циклов: 95°C — 30с; 55 °C — 30с; 72 °C — 30с; 3) 72 °C — 5 мин; 4) 4 °C. Очистка ПЦР-продуктов проводилась с использованием шариков Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, США) в соответствии с протоколом производителя [10].

Второй раунд амплификации осуществлялся для двойного индексирования образцов с помощью комбинации специфических праймеров. В данном случае программа амплификации (амплификатор Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler, США) включала: 1) 95 °C — 3 мин; 2) 8 циклов: 95 °C — 30с; 55 °C — 30с; 72 °C — 30с; 3) 72 °C — 5 мин; 4) 4 °C. Очистка ПЦР-

продуктов осуществлялась также с использованием шариков Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter) в соответствии с протоколом производителя [10].

Концентрация полученных библиотек 16S определялась с помощью флуориметра Qubit 2.0 (Invitrogen, США) с использованием набора QuantiT dsDNA High-Sensitivity Assay Kit. Очищенные ампликоны смешивали эквимольно в соответствии с полученными концентрациями. После чего на приборе Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, США) с использованием набора Agilent DNA 1000 Kit оценивали качество приготовленного пула библиотек. Секвенирование проводилось в режиме парно-концевых прочтений (2x300 нуклеотидов) с использованием набора MiSeq Reagent Kit v2 на приборе MiSeq (Illumina).

Все прочтения были отфильтрованы по качеству и обрезаны с 3'-конца при помощи trimmomatic, после чего парно - концевые прочтения были объединены в единую последовательность ампликона при помощи MeFiT [59, 107]. Была проведена прямая таксономическая аннотация полученных последовательностей ампликонов при помощи RDP classifier и баз данных RDP вместо кластеризации ридов и поиска операционных таксономических единиц (OTU) [141]. Дальнейшая обработка данных проводилась в среде R с использованием пакетов vegan, fossil, GUniFrac. Размер выборки не основывался на статистических соображениях. Все численные данные были проанализированы с использованием t-теста Стьюдента и критерия Вилкоксона.

2.2.9. Статистическая обработка полученных данных

Статистическая обработка результатов, полученных в ходе исследования, была выполнена автором лично на персональном компьютере с использованием программного пакета «SPSS /// for Windows».

Для описания качественных признаков использовались относительные (%) и абсолютные показатели, а также среднее арифметическое и среднее квадратическое отклонение.

Для зависимых и независимых выборок при оценке уровня статистической значимости различий между основной и контрольной группами при нормальном распределении был использован t-критерий Стьюдента, при распределении отличном от нормального - критерий Вилкоксона. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для построения статистических моделей при нормальном распределении мы использовали критерий Пирсона, суть которого состоит в вычислении χ^2 по формуле:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(n_i - n'_i)^2}{n'_i}$$

Для вычисления коэффициента корреляции при порядковых данных (рангов) применялся непараметрический критерий Спирмена.

Теснота связи между двумя признаками оценивалась по коэффициенту ранговой корреляции: менее 0,3 - слабая связь, 0,4, - 0,7 – умеренная, более 0,7 высокая. Для оценки статистической значимости полученного коэффициента использовался t-критерия Стьюдента.

2.3. Общая характеристика обследуемых больных

В исследование было включено 65 пациентов: 35 (54%) мужчин и 30 (46%) женщин (рисунок 13).



Рисунок 13. Распределение пациентов по полу, %

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.

Все пациенты, включенные в исследование были, разделены на две группы. Основную группу составили лица с рецидивом клинических проявлений ГЭРБ после проведенного лечения, контрольную группу - с впервые выявленной ГЭРБ, не получавших лечения.

В основную группу вошли 19 (51,6%) мужчин и 18 (48,4%) женщин. Средний возраст пациентов основной группы составил $45,23 \pm 11,47$ лет: мужчин – 37,69 лет, женщин- 53,27 лет. В контрольной группе анализ проводился у 16 (57,1%) мужчин и 12 (42,9%) женщин. Средний возраст обследуемых контрольной группы составил $40,25 \pm 12,85$ лет: мужчин – 36,35 лет, женщин – 45,7 лет.

Таким образом, распределение пациентов по полу и возрасту в основной и контрольной группах 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), $p=0,015$ (рисунок 14).

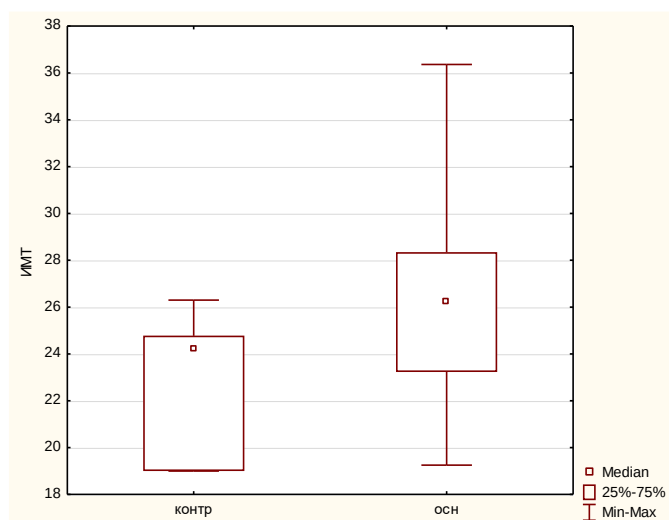


Рисунок 14. Медиана ИМТ в основной и контрольной группах

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Особенности клинической картины у пациентов с рецидивом гастроэзофагеальной рефлюксной болезни

Все пациенты, включенные в исследование, жаловались на изжогу. Однако частота и интенсивность данного симптома у больных основной и контрольной групп различалась.

Не менее 1 раза в неделю отмечали у себя появление изжоги 15% лиц с рецидивом заболевания и 12,5% с впервые выявленной ГЭРБ, 2 – 3 раза в неделю – 50% и 87,5%, соответственно (рисунок 15). Частая изжога (чаще 4 дней в неделю) отмечалась только у исследуемых основной группы. Различия между группами достигли уровня статистической значимости ($p=0,019$, $\chi^2=4,97$).

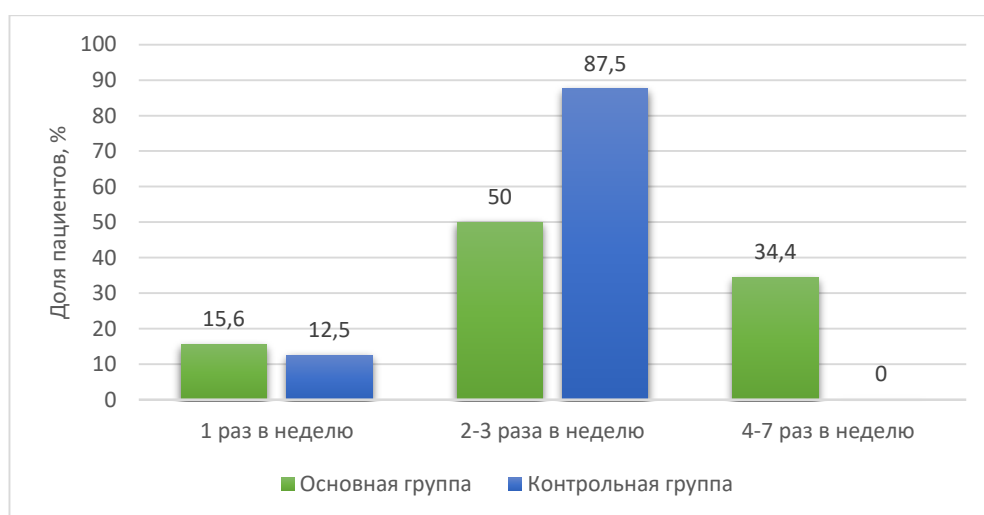


Рисунок 15. Частота изжоги в основной и контрольной группе

Интенсивность изжоги оценивалась пациентами по опроснику клиники Мэйо согласно ее влиянию на повседневную жизнь: незначительная (иногда удается не обращать внимания), умеренная (беспокоит, но не мешает в повседневной жизни), выраженная (иногда мешает в повседневной жизни) и очень выраженная (часто мешает в повседневной жизни). В основной группе 25,8% исследуемых отмечали очень сильную изжогу, 41,9% - сильную, 22,6% - среднюю, 9,6% - слабую. В контрольной группе изжога, часто мешающая в повседневной жизни, не беспокоила ни одного пациента, сильная изжога встречалась у 20,8%, средняя – у 45,8%, слабая – у 33,4%. По данному признаку

различия между группами достигли уровня статистической значимости ($p=0,026$, $\chi^2=4,86$) (рисунок 16).

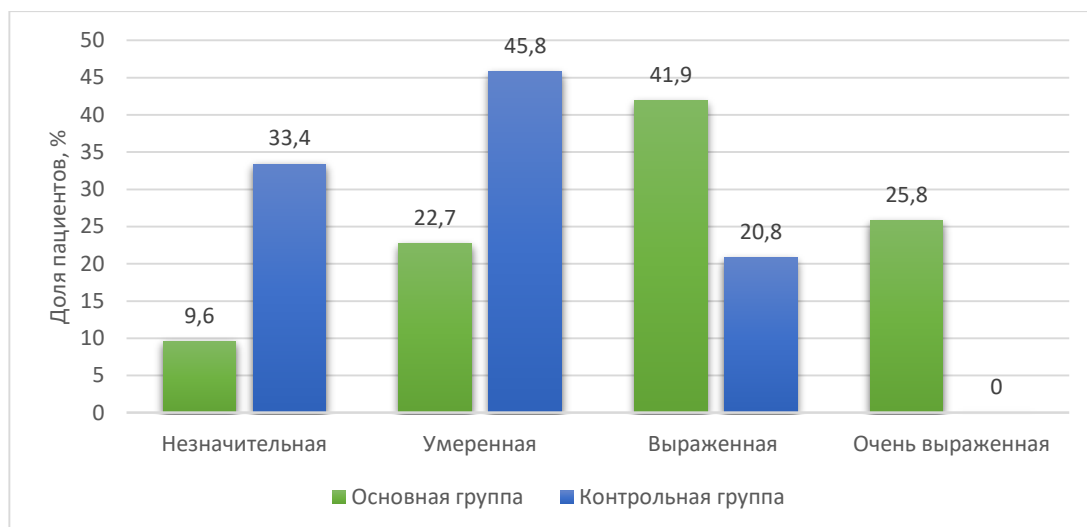


Рисунок 16. Интенсивность изжоги у больных основной и контрольной группы

Продолжительность заболевания в основной группе составляла от 1 до 5 лет у 16 человек (43,2%), 5 – 10 лет – у 11 (29,7%), более 10 лет – у 9 (26,6%) (рисунок 17). Все исследуемые контрольной группы согласно критериям включения не получали терапию ранее и длительность заболевания составляла менее года.

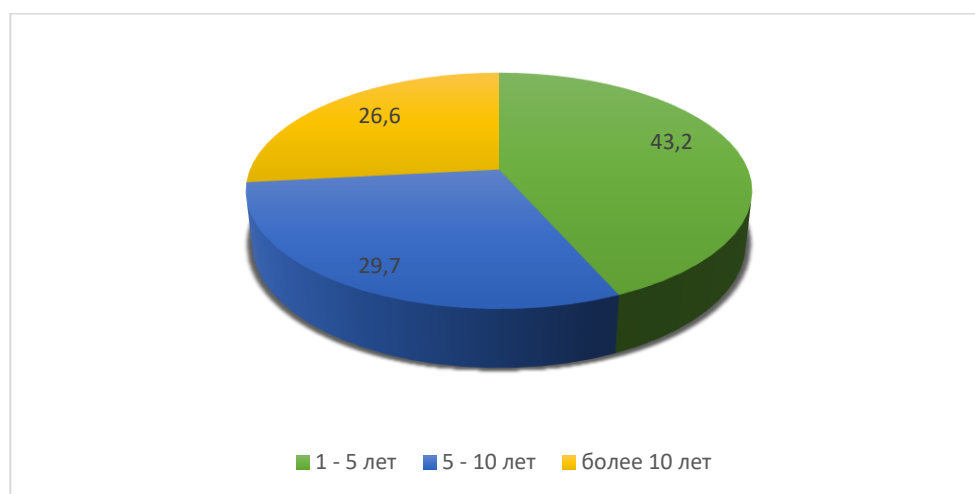


Рисунок 17. Длительность заболевания у больных с рецидивом ГЭРБ (доля пациентов, %)

Кроме того, мы проанализировали частоту возникновения изжоги после еды у пациентов в основной и контрольной группах (рисунок 18). У 25% больных с рецидивом заболевания и 12,5% с впервые выявленной ГЭРБ изжога не была связана с едой, у 14,8% и 12,5%, соответственно, возникала после еды не чаще 1 раза в неделю, 37% и 75% - 2 - 3 раза в неделю, и у 22,2% пациентов основной группы 4-6 раз в неделю. Следует отметить, что никто из исследуемых не отмечал ежедневную изжогу после каждого приема пищи. Различия между группами по данным показателям не достигли уровня статистической значимости ($p=0,063$).

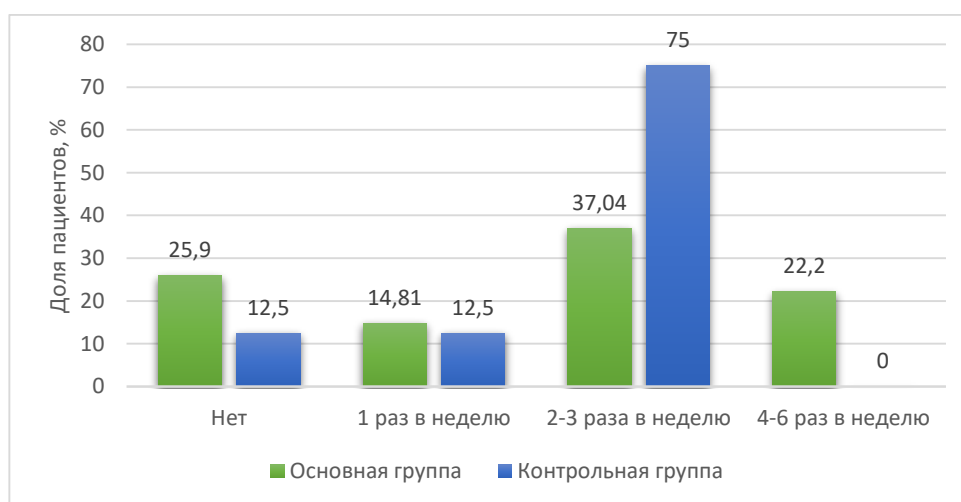


Рисунок 18. Частота возникновения изжоги после еды у пациентов основной и контрольной групп

Важной характеристикой изжоги является также ее связь с положением тела: наклоны туловища вниз и вперед, принятие горизонтального положения.

Изжога в ночное время (в горизонтальном положении) беспокоила 13 пациентов (35,5%) с рецидивом заболевания и 2 (8,3%) – с впервые выявленной ГЭРБ (рисунок 19). Различия между группами достигли уровня статистической значимости ($p=0,04$).



Рисунок 19. Изжога в горизонтальном положении и в ночное время у больных с рецидивом заболевания и впервые выявленной ГЭРБ

У 44,4% пациентов основной и 62,5% контрольной группы изжога не возникала при наклонах туловища вперед и вниз. 3,7% больных с рецидивом заболевания отмечали появление изжоги при каждом наклоне, что не наблюдалось ни у одного исследуемого с впервые выявленной ГЭРБ. Часто (2-6 раз в неделю) изжога появлялась у 14,81% пациентов основной и 12,5% контрольной групп, иногда (2-3 раза в неделю) у 29,63% и 12,5% респондентов, соответственно. Различия между группами не достигли уровня статистической значимости по данному признаку ($p=0,58$).

Купирование изжоги происходило самостоятельно только у лиц с впервые выявленной ГЭРБ (42%). Пациентам с рецидивом заболевания необходимо было применение обволакивающих препаратов (32,3%) и ИПП (67,7%). Различия между группами достигли уровня статистической значимости ($p=0,04$).

Не было выявлено различий между группами по частоте возникновения отрыжки воздухом ($p=0,12$) (рисунок 20). Ни у одного из исследуемых данный симптом не возникал ежедневно. Следует отметить, что 7,4% пациентов основной группы не жаловались на отрыжку воздухом. Четверть больных в обеих группах отмечали появление данного симптома не чаще 1 раза в неделю. Отрыжка воздухом с частотой 2-3 дня в неделю возникала у 30% пациентов основной группы и 62,5% - контрольной, 4-6 раз в неделю у 37% и 12,5%, соответственно.

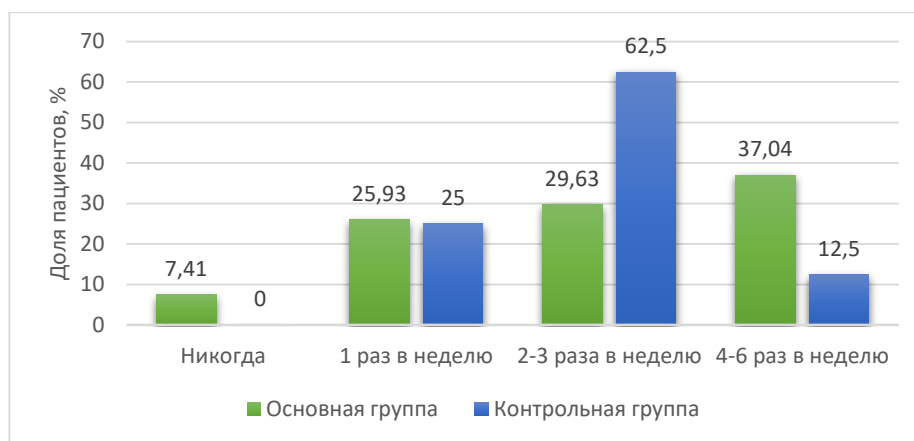


Рисунок 20. Частота возникновения отрыжки воздухом у пациентов основной и контрольной групп

Такой симптом как горечь во рту отмечали 66,7% больных с рецидивом заболевания и 37,5% - с впервые выявленной ГЭРБ (рисунок 21). Треть обследуемых в основной группе и более половины в контрольной отрицали у себя данный симптом. Горечь во рту с частотой 1 раз в неделю беспокоила 22% больных с рецидивом заболевания и ни одного с впервые выявленной ГЭРБ, 2 - 3 дня в неделю – 37% и 25% пациентов соответственно. 4 – 6 дней в неделю данных симптом отмечали только исследуемые в основной группе (7,4%). Уровень различий по данному признаку достиг статистической значимости ($p=0,033$, $\chi^2=4,75$).

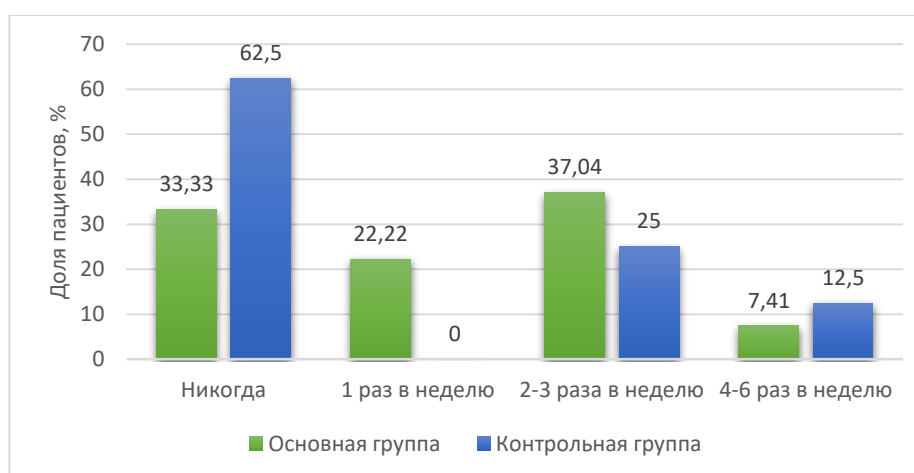


Рисунок 21. Частота возникновения горечи во рту у пациентов основной и контрольной групп

Одними из симптомов, которые могут возникать у больных с ГЭРБ являются дисфагия (при приеме жидкой или твердой пищи) и одиофагия. Жалоб на болезненное глотание (одиофагия) не было ни у кого из больных.

Пищеводная дисфагия при приеме жидкой пищи также не беспокоила никого из исследуемых. Нестойкое нарушение прохождения твердой пищи по пищеводу отмечали 60% лиц с рецидивом и 62,5% с впервые выявленным заболеванием. Следует отметить, что ежедневно и с частотой 2-3 раза в неделю данный симптом возникал только у больных основной группы (рисунок 22). Не чаще 1 раза в неделю дисфагию отмечали 37% пациентов основной группы, и половина контрольной. 4 - 6 раз в неделю данный симптом встречался у 7,4% лиц с рецидивом заболевания и 12,5% с впервые выявленной ГЭРБ. Статистически значимого уровня достигнуто не было при сравнении двух групп по данному признаку ($p=0,54$).

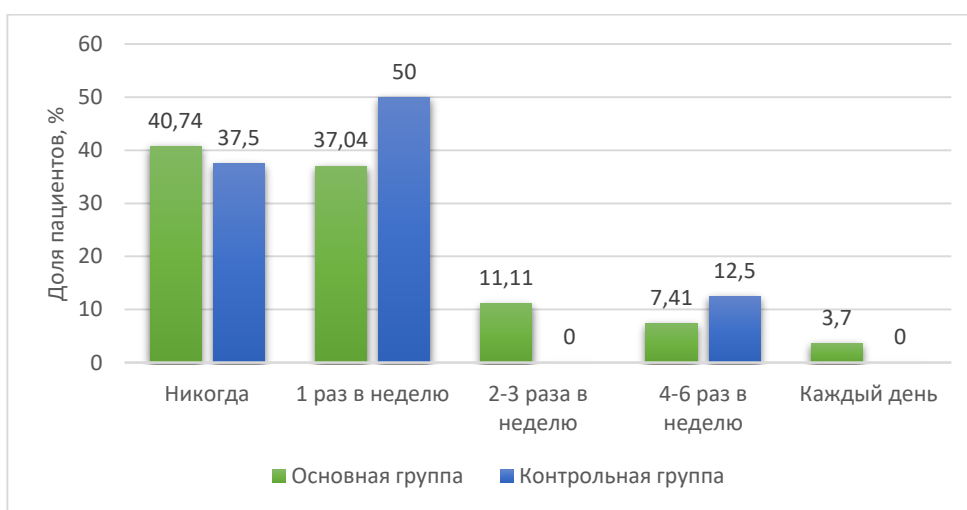


Рисунок 22. Частота возникновения дисфагии у пациентов в основной и контрольной группах

Ощущение жжения во рту беспокоило 59% больных с рецидивом заболевания и 62,5% с впервые выявленной ГЭРБ (рисунок 23). При этом 4 - 6 дней в неделю данный симптом возникал у 18,52% исследуемых основной группы и 12,5%- контрольной. 14,8% больных с рецидивом отмечали появление ощущения жжения во рту 1 раз в неделю, с рецидивом ГЭРБ – 12,5%, 2 - 3 раза в неделю 25,9% и 37,5%, соответственно. Различия по частоте возникновения

данного симптома не достигли уровня статистической значимости между больными основной и контрольной групп (p=0,14).

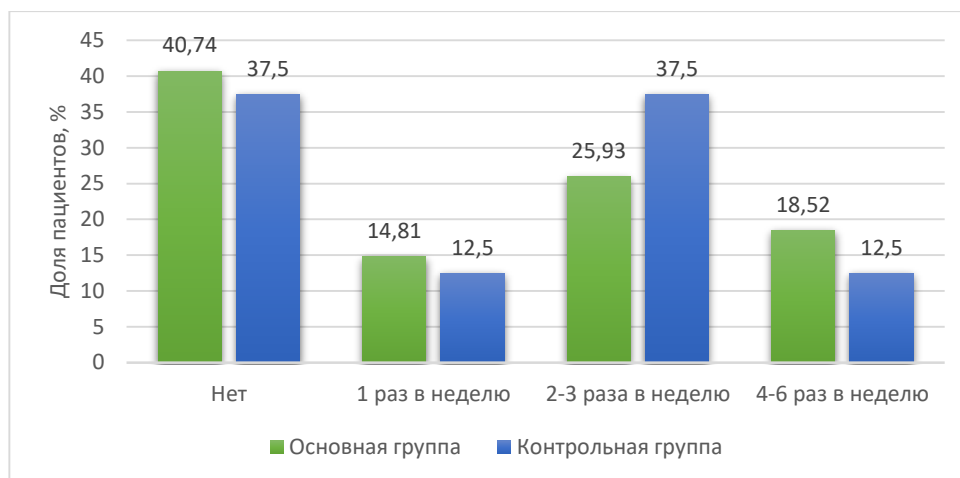


Рисунок 23. Частота возникновения ощущения жжения во рту у больных в основной и контрольной группах

Кроме типичного симптомокомплекса ГЭРБ, пациенты основной и контрольной групп также имели диспепсические жалобы: вздутие живота, боль или тяжесть в эпигастральной области.

Вздутие живота с различной частотой встречалось у 92,6% пациентов основной и 62,5% контрольной групп (рисунок 24). У 29,6% больных с рецидивом заболевания данный симптом возникал не чаще 1 дня в неделю, у 37% - 2 – 3 дня в неделю, у 25,9% - 4-6 дней в неделю, у больных с впервые выявленной ГЭРБ эти цифры составили 25%, 25% и 12,5%, соответственно. По данному признаку был достигнут уровень статистической значимости (p=0,012, $\chi^2=4,89$).

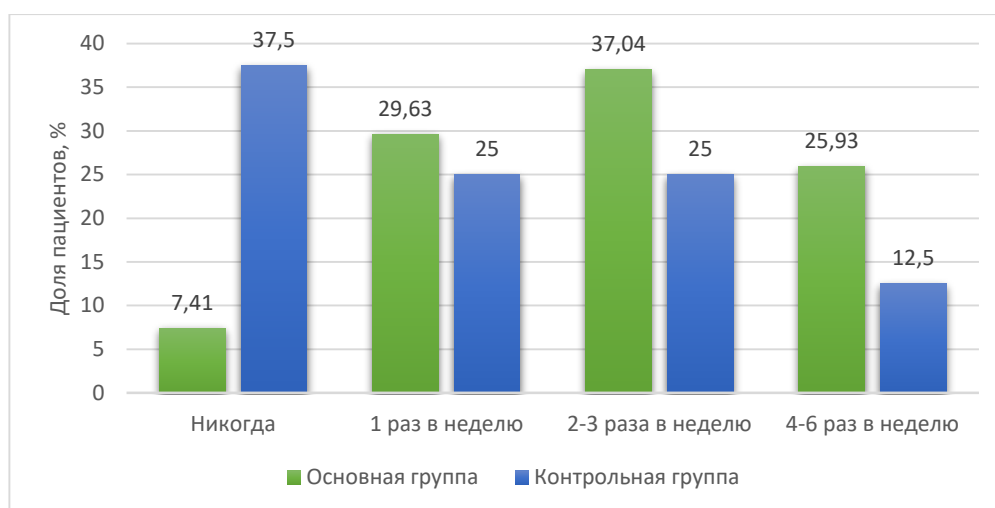


Рисунок 24. Частота возникновения вздутия живота у пациентов основной и контрольной групп

Тяжесть в эпигастральной области после еды отмечали все пациенты в основной группе и 75% - в контрольной (рисунок 25). При этом, следует отметить, что данный симптом не возникал у исследуемых ежедневно. Не чаще 1 раза в неделю тяжесть после еды беспокоила 18% лиц с рецидивом заболевания и 25% с впервые выявленной ГЭРБ, 2 - 3 дня в неделю – 55,56% и 37,5%, соответственно. 4 - 6 дней в неделю этот симптом отмечали 25,9% больных основной и 12,5% контрольной группы. Таким образом, различия между группами достигли уровня статистической значимости ($p=0,037$, $\chi^2=4,79$).

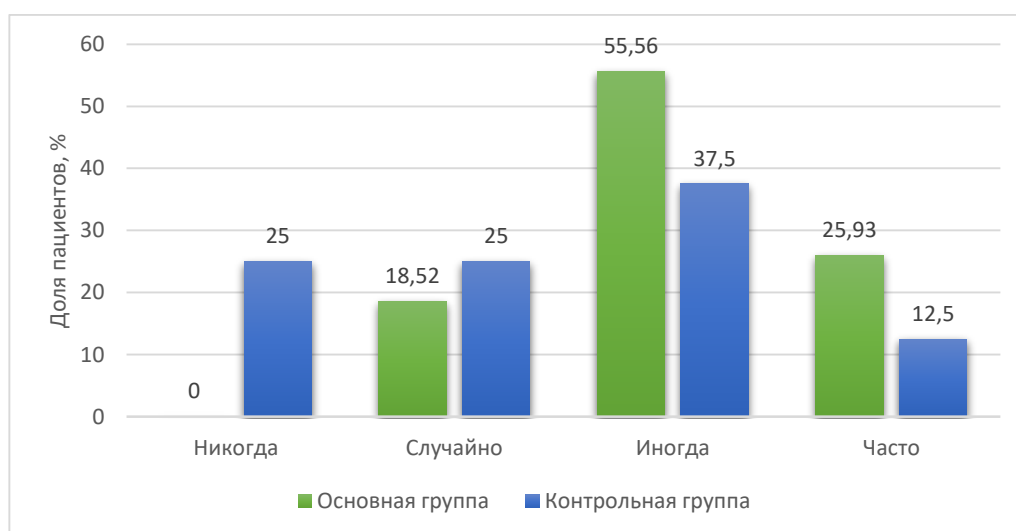


Рисунок 25. Частота тяжести в эпигастральной области после еды у пациентов основной и контрольной групп

Боль в эпигастральной области беспокоила 56,6% больных с рецидивом заболевания и 62,5% с впервые выявленной ГЭРБ (рисунок 26). Раз в неделю болевой синдром отмечали 29,6% исследуемых основной и 37,5% – контрольной группы, 2 - 3 дня в неделю – 18,5% и 25%, соответственно. Часто, а именно 4 – 6 дней в неделю, боль возникала у 7,4% с рецидивом заболевания и не выявлялась с такой частотой ни у кого из исследуемых с впервые выявленной ГЭРБ. Различия между группами по данному признаку не достигли уровня статистической значимости ($p=0,64$).

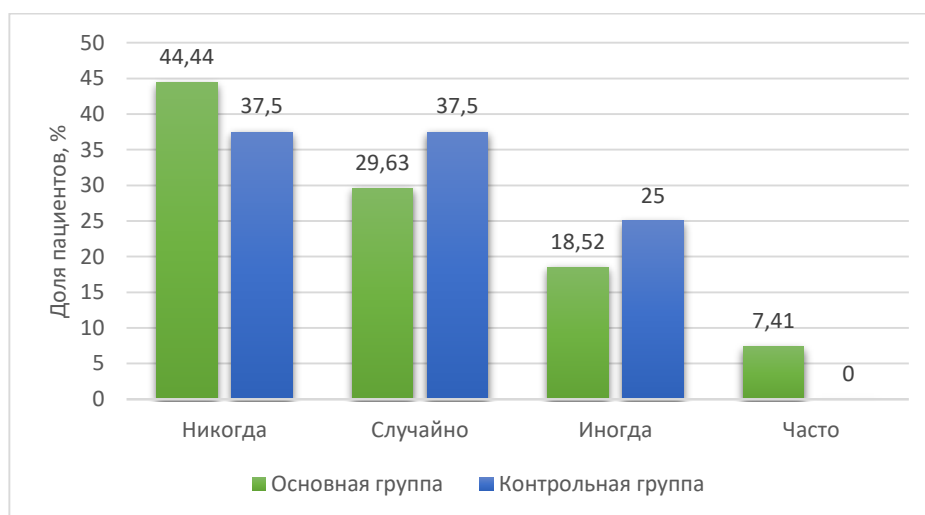


Рисунок 26. Частота боли в эпигастрии у пациентов основной и контрольной групп

3.2. Эндоскопическая картина пищевода у пациентов с впервые выявленной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и ее рецидивом

Всем пациентам, включенным в исследование, была проведена ЭГДС для оценки состояния слизистой оболочки пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки, а также верификации формы ГЭРБ.

Статистически значимой разницы по количеству пациентов с неэрозивной формой ГЭРБ и эрозивным рефлюкс - эзофагитом между двумя группами выявлено не было. В группе с рецидивом заболевания у 22,6%

пациентов выявлялось эрозивное поражение слизистой оболочки пищевода, в группе с впервые выявленной ГЭРБ – в 8,3% (рисунок 27).

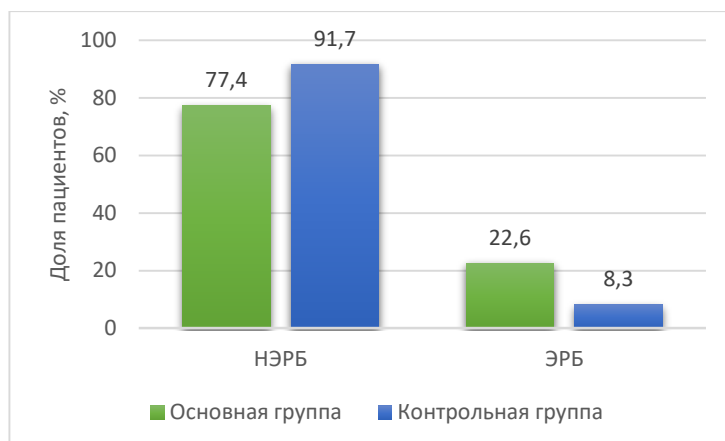


Рисунок 27. Распределение пациентов по форме ГЭРБ в основной и контрольной группах ($p=0,16$, $U=319$)

Согласно Лос – Анджелесской классификации, позволяющей оценить степень тяжести рефлюкс-эзофагита, было выявлено, что в обеих группах преобладали пациенты с 1 степенью (77,4% в основной, 91,7%- контрольной) (рисунок 28). В контрольной группе не было лиц с эзофагитом 3 и 4 степени, в то время как такие встречались в 3,2 % случаев в основной. 2 степень эзофагита была выявлена у 16,2 % больных с рецидивом заболевания и у 8,3% - с впервые выявленной ГЭРБ. Однако различия между двумя группами по этому признаку не достигли уровня статистической значимости.

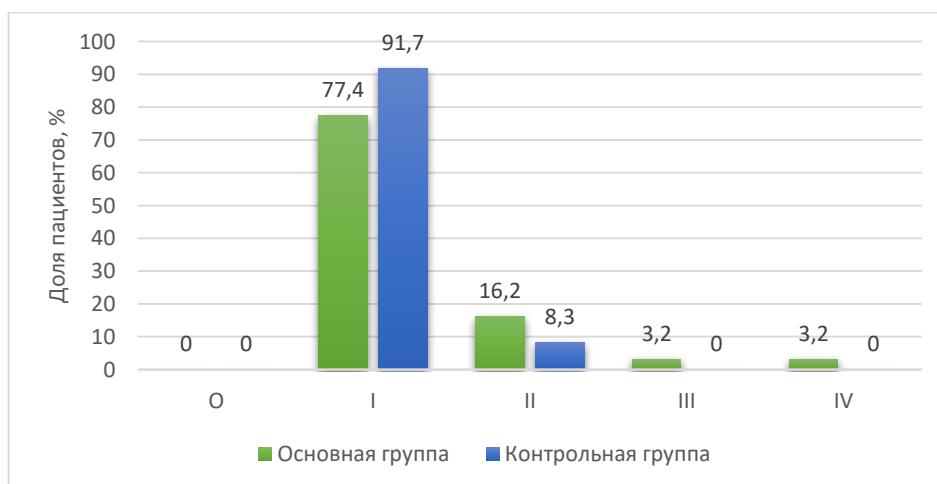


Рисунок 28. Степень тяжести рефлюкс - эзофагита в основной и контрольной группах (Лос – Анджелесской классификации)

При проведении ЭГДС также обращали внимание на выявление полипов в пищеводе. Однако по этому признаку различия между группами также не достигли уровня статистической значимости (6,4% в основной группе и 8,3% в контрольной, $p=0,17$).

При оценке состояния слизистой оболочки желудка оказалось, что в группе с впервые выявленной ГЭРБ достоверно чаще выявлялся эрозивный гастрит (33,3%) по сравнению с группой с рецидивом заболевания (6,4%) (рисунок 29). Гораздо реже у исследуемых обнаруживались эрозии в двенадцатиперстной кишке (3,2%- основная группа, 8,3%- контрольная) и группы по этому признаку не отличались.

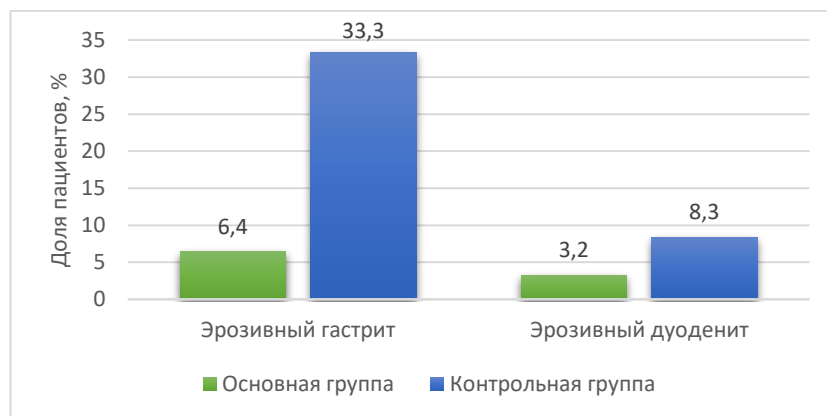


Рисунок 29. Частота выявления эрозивного гастрита и эрозивного дуоденита у пациентов основной и контрольной групп ($p=0,011$, $U=272$; $p=0,42$, $U=353$, соответственно)

При помощи ЭГДС также были оценены косвенные признаки ДГР: поступление желчи в желудок из зияющего привратника, окрашивание желудочного содержимого в характерный желтый цвет и/или примесь желчи в желудке. Эти признаки были выявлены у преобладающего большинства исследуемых основной (90,3%) и контрольной (83,3%) групп и не достигли уровня статистической значимости.

3.3. Морфологическая картина слизистой оболочки пищевода при рецидивировании гастроэзофагеальной рефлюксной болезни

Морфологическое исследование биоптатов пищевода было выполнено 38 пациентам: из них 10 больным с впервые выявленной ГЭРБ и 28 – с рецидивом заболевания.

При морфологическом исследовании оценивались активность и степень выраженности воспаления, наличие дистрофии, некроза, гиперплазии эпителия, сосудистые изменения, утолщение сосочкового слоя, наличие инфильтрации клеточного состава субэпителиального слоя, клеточный состав собственной пластинки слизистой, метаплазия и дисплазия эпителия.

По данным гистологического исследования у всех пациентов были выявлены признаки воспаления той или иной степени.

У 75% исследуемых основной и 80% пациентов контрольной групп был выявлен неактивный эзофагит. Слабая степень активности воспаления отмечалась у 25% пациентов с рецидивом заболевания и 20% - с впервые выявленной ГЭРБ. По степени активности эзофагита разница между двумя группами не достигла уровня статистической значимости (рисунок 30).



Рисунок 30. Степень активности эзофагита у пациентов основной и контрольной групп (p=0,23)

Лимфоплазмоцитарная инфильтрация была выявлена у 32% исследуемых основной группы и 20% - контрольной группы. Однако статистически значимой разницы между группами не отмечалось ($p=0,69$).

Нейтрофильная инфильтрация наблюдалась у трети больных с рецидивом ГЭРБ и не выявлялась у лиц с впервые выявленной ГЭРБ ($p=0,55$).

В основной группе чаще в эпителии пищевода обнаруживалась мононуклеарная инфильтрация эпителия, по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о более выраженной степени воспаления у больных с рецидивом ГЭРБ ($p=0,003$) (рисунок 31).

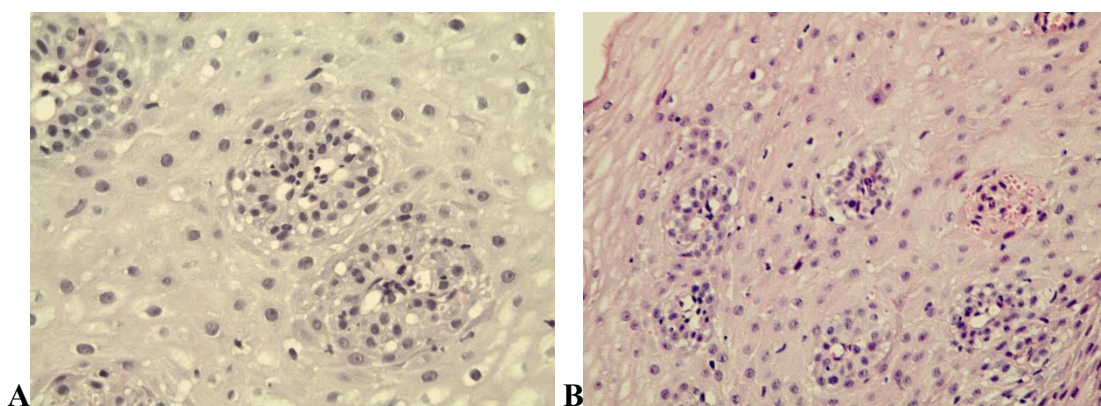
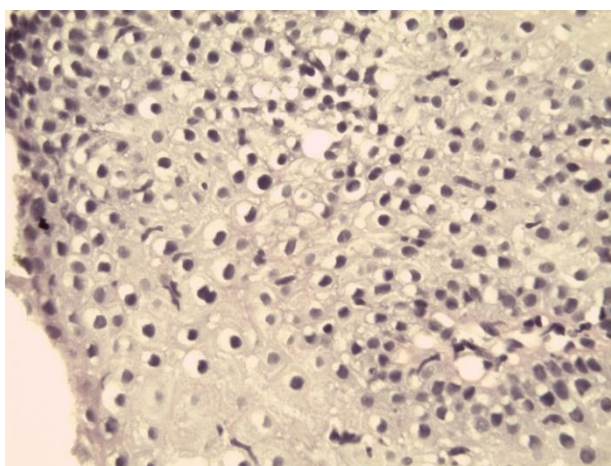


Рисунок 31. Мононуклеарная инфильтрация эпителия (А), базального слоя (В), х400

Вакуольная дистрофия эпителия, возникающая в условиях воспаления, была выявлена только у пациентов с рецидивом заболевания (25%) (рисунок 32).

Рисунок 32. Вакуольная дистрофия эпителия, окраска гематоксилином и эозином, х400



Особенностями гистологической картины у пациентов основной группы являются более частое выявление акантоза ($p=0,003$), который характеризуется пролиферацией базальных клеток слизистой оболочки пищевода и погружным ростом эпителия в собственную пластинку слизистой оболочки (рисунок 33).

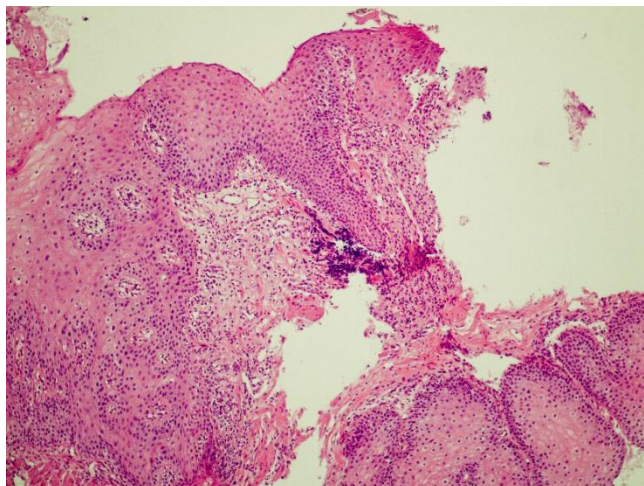


Рисунок 33. Акантоз, папилломатоз, воспалительная инфильтрация собственной пластинки, окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

При развитии воспаления в пищеводе синхронно с появлением пролиферативного акантоза отмечается удлинение соединительнотканых сосочков, что обусловлено выделением макрофагами фактора роста фибробластов и эпидермального фактора роста. У пациентов с рецидивом ГЭРБ чаще выявлялось удлинение сосочков слизистой по сравнению с больными с впервые выявленной ГЭРБ ($p=0,01$) (рисунок 34).

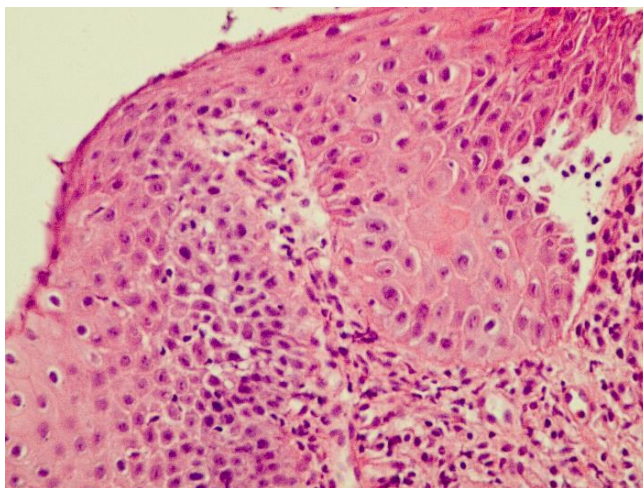


Рисунок 34. Удлинение сосочков собственной пластинки, лимфомакрофагальная инфильтрация подлежащей ткани, окраска гематоксилином и эозином, х400

Следует отметить, что ни у одного из исследуемых основной группы не было выявлено в биоптатах слизистой оболочки пищевода койлоцитоза, в то время как у пациентов контрольной группы он встречался в 20% случаев ($p=0,015$) (рисунок 35).

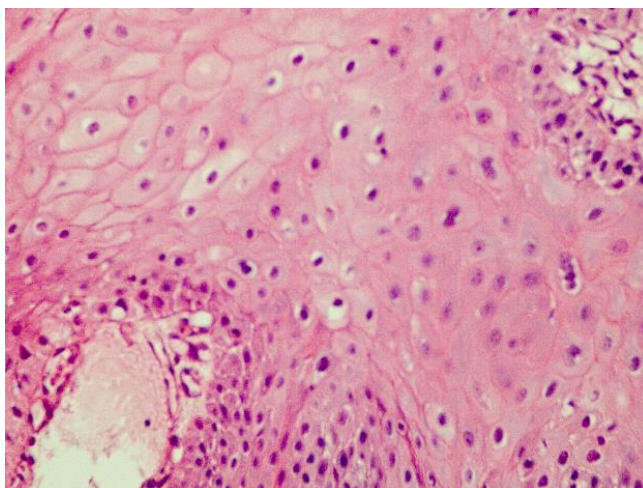


Рисунок 35. Койлоцитоз: двоядерные клетки, окраска гематоксилином и эозином, х400

Эозинофилы выявлялись у 11% пациентов с рецидивом заболевания и у 20% с впервые выявленной ГЭРБ. Однако по данному признаку различия между группами не достигли уровня статистической значимости (рисунок 36).

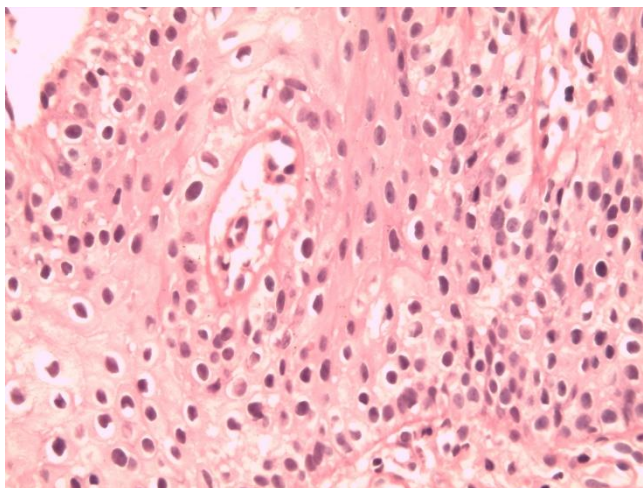


Рисунок 36. Эозинофилы в воспалительном инфильтрате, окраска гематоксилином и эозином, х 400

У 20% пациентов контрольной и 25% основной группы при морфологическом исследовании была выявлена цилиндроклеточная метаплазия. По этому признаку также не было достигнуто уровня статистически значимой разницы между группами.

Признаков кишечной метаплазии (бокаловидных клеток) ни у одного пациента выявлено не было.

3.4. Особенности двигательной функции пищевода у пациентов при рецидивировании гастроэзофагеальной рефлюксной болезни

Исследование двигательной функции пищевода было выполнено всем пациентам, участвующим в исследовании.

Анализ показателей манометрии пищевода высокого разрешения показал, что давление покоя ВПС и НПС у пациентов основной и контрольной групп не отличалось (таблица 13, таблица 14).

Таблица 13. Давление покоя ВПС у пациентов основной и контрольной групп

	Основная группа		Контрольная группа		p
	п	%	п	%	
Норма (46-81 мм рт.ст.)	14	45,2	10	41,7	0,96
Повышено (>81 мм рт.ст.)	7	22,6	6	25	
Понижено (<46 мм рт.ст.)	10	32,2	8	33,3	

Таблица 14. Давление покоя НПС у пациентов основной и контрольной групп.

	Основная группа		Контрольная группа		p
	п	%	п	%	
Норма (10-35 мм рт.ст.)	20	64,5	20	83,4	0,27
Повышено (>35 мм рт.ст.)	4	12,9	2	8,3	
Понижено (<10 мм рт.ст.)	7	22,6	2	8,3	

Суммарное давления расслабления НПС у всех пациентов основной и контрольной групп было в норме (<15 мм рт.ст). Время сокращения проксимального сегмента (DL) грудного отдела пищевода у пациентов основной и контрольной групп составляло больше 4,5 секунд, что также соответствует норме.

Длина разрыва сокращения (участок сокращения стенки пищевода с давлением менее 20 мм рт. ст., который считается «выпавшим» из сокращения) была выше нормы у большего числа пациентов основной группы (22,6%) по сравнению с контрольной (8,3%) (рисунок 37).

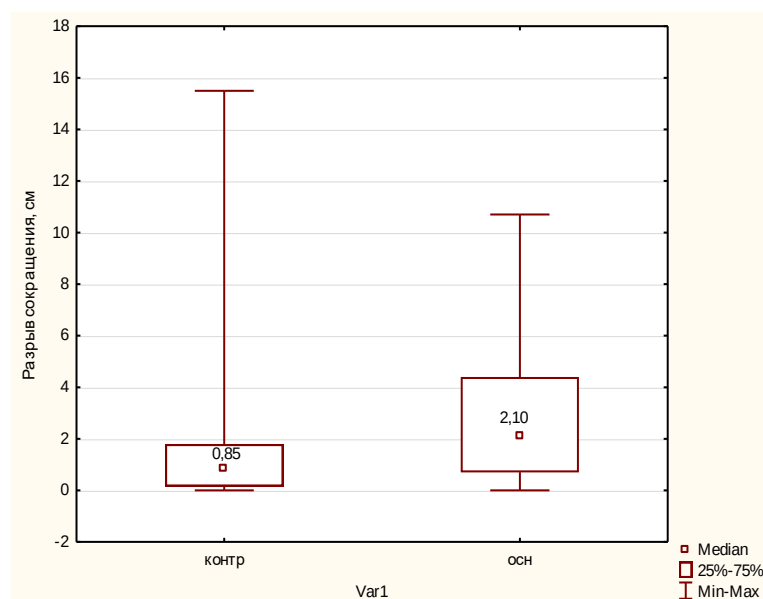


Рисунок 37. Длина разрыва сокращения грудного отдела пищевода у пациентов основной и контрольной групп ($p=0,02$)

Интенсивность сокращения дистального сегмента была в норме у 54,8% пациентов основной группы и 83,3%- контрольной; снижена у 45,2% и 16,7% соответственно, $p=0,02$, $\chi^2=4,98$ (таблица 15). Статистически шансы развития рецидива ГЭРБ выше у пациентов со сниженной интенсивностью сокращения дистального сегмента пищевода (ОШ 4,19 95%ДИ 1,14-14,89).

Таблица 15. Интенсивность сокращения дистального сегмента (DCI) у пациентов основной и контрольной групп

	Основная группа		Контрольная группа	
	п	%	п	%
Норма (450-8000 мм рт.ст.*с*см)	17	54,8	20	83,3
Повышено (>8000 мм рт.ст.*с*см)	0	0	0	0
Понижено (<450 мм рт.ст.*с*см)	14	45,2	4	16,7

Корреляционный анализ между протяженностью разрыва сокращения и интенсивностью сокращения дистального сегмента выявил отрицательную связь между данными параметрами ($r=-0,53$, $p=0,0004$) (рисунок 38).

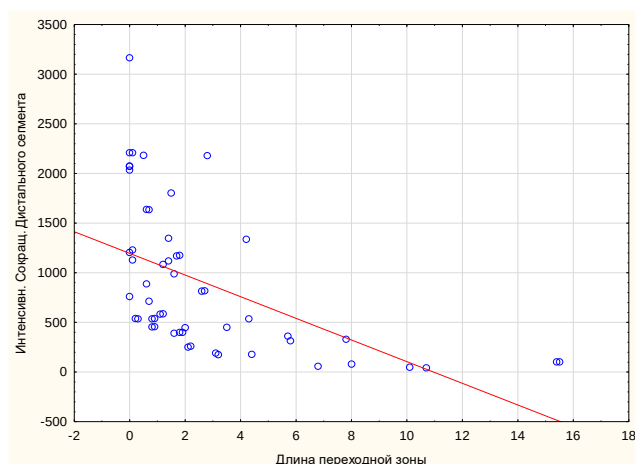


Рисунок 38. Корреляция между длиной разрыва сокращения (см) и интенсивностью сокращения дистального сегмента

Интактное сокращение дистального сегмента пищевода прослеживалось у 55% пациентов основной и 83,3% контрольной групп ($p=0,026$, $\chi^2=4,89$, ОШ 4,12 ДИ 1,14-14,89) (рисунок 39).

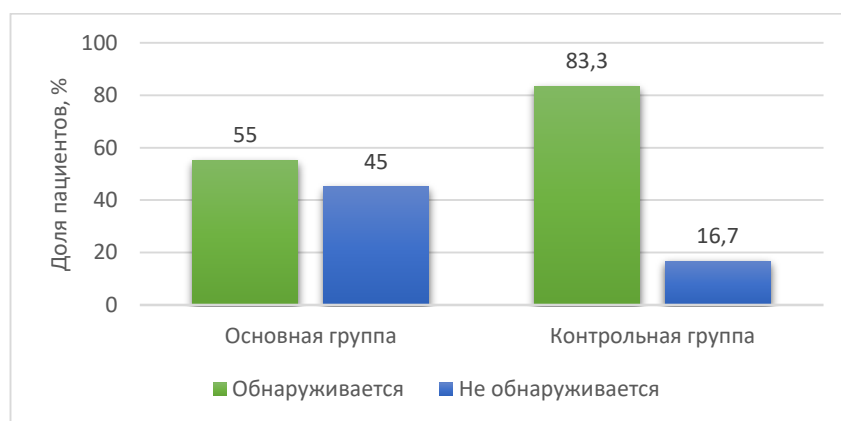


Рисунок 39. Интактное сокращение дистального сегмента пищевода у больных основной и контрольной групп

Отсутствие перистальтики в грудном отделе пищевода наблюдалось у 13% пациентов основной группы, и не встречалось в контрольной группе, ($p=0,07$).

Снижение перистальтики в дистальном отделе было выявлено у 14 (37,8%) пациентов с рецидивом заболевания и 4 (14,2%) - с впервые выявленной ГЭРБ ($p=0,04$) (рисунок 40). Различия между группами достигли уровня статистической значимости.

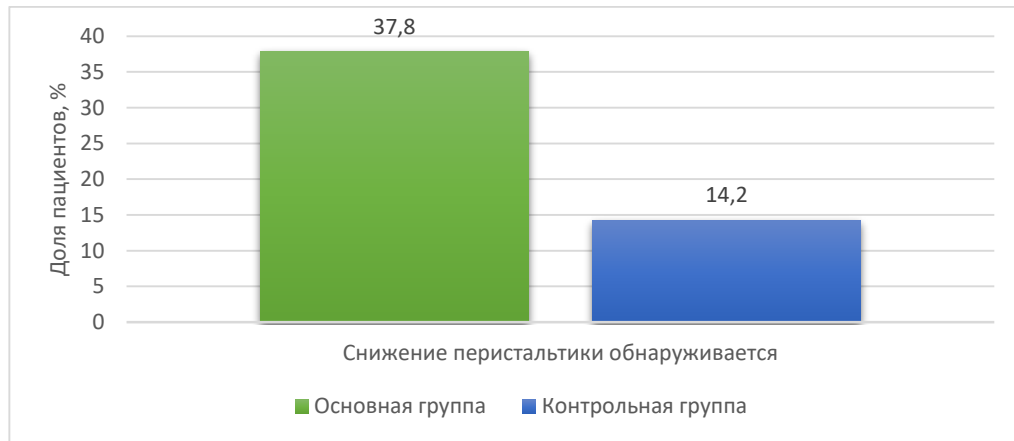


Рисунок 40. Снижение перистальтики в дистальном отделе пищевода по данным манометрии

По данным манометрии пищевода ГПОД была диагностирована у 7 (18,9%) больных с рецидивом заболевания и у 1 пациента с впервые выявленной ГЭРБ ($P=0,03$, ОШ 1,24, ДИ 1,044-1,47) (рисунок 41).

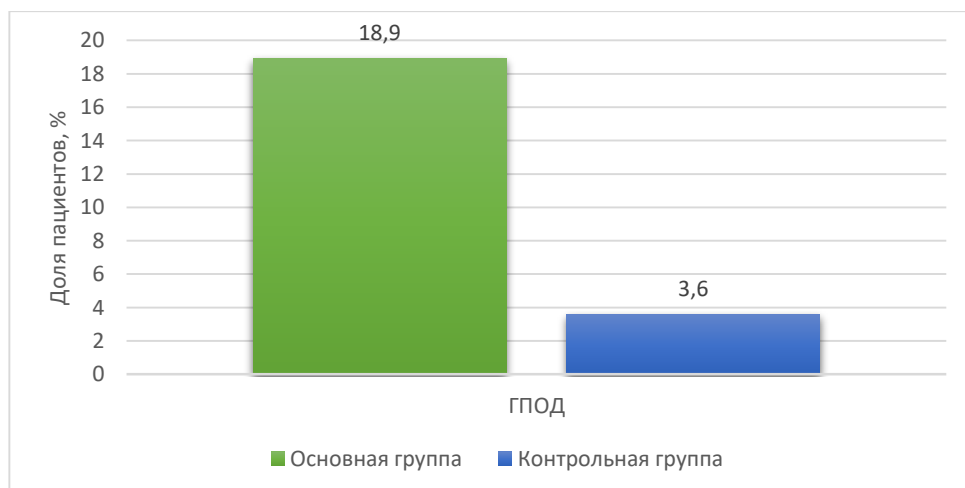


Рисунок 41. Частота обнаружения ГПОД по данным манометрии пищевода у больных основной и контрольной групп

3.5. Сравнительный анализ показателей 24- часовой рН- импедансометрии у пациентов с впервые выявленной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и ее рецидивом

Всем пациентам, включенным в исследование, была проведена 24- часовая рН - импедансометрия.

При анализе данных 24 - часовой рН - метрии, обращают на себя внимание более высокие значения (медиана (25-75 перцентиль) 95 перцентиль) индекса DeMeester у пациентов основной группы (26,7 (11,4-50,4) 118,36) по сравнению с контрольной (4,54 (4,01-10,3) 21,23) (таблица 16). % времени с рН <4 в течение суток в группе с рецидивом заболевания составил 7,6 (4,1-13,6) 33,0 %, с впервые выявленной ГЭРБ – 4,33 (1,29-9,0) 36,34 %. Разница по общему количеству (кислых) рефлюксов не достигла уровня статистической значимости между группами: основная группа – 82 (54-109) 155, контрольная – 80 (55,5-96,0) 114. Рефлюксы более 5 минут в основной группе составили 4,3 (1,0-7,1) 20,9, что выше, чем в контрольной группе - 1,0 (0-1,6) 5,4; $p=0,00097$. У больных с рецидивом заболевания рефлюксы были более продолжительные по времени 13,4 (5,9-59) 99,1 мин, по сравнению с лицами с впервые выявленной ГЭРБ 6,56 (2,1-8,7) 21,6 мин, ($p=0,0027$).

Таблица 16. Сравнительный анализ показателей 24- часовой рН-метрии у пациентов основной и контрольной групп

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

По данным 24- часовой рН- импедансометрии общее количество рефлюксов в основной группе составило 57,5 (34,8-81,4) 152,6, в контрольной - 52,3 (27,8-69,9) 97. Различия по количеству рефлюксов в положении стоя и лежа между двумя группами не достигли уровня статистической значимости.

При анализе распределения рефлюксов по кислотности в основной группе общее количество кислых рефлюксов оказалось 41,3 (22,2-53,6) 109,4, в контрольной - 26,3 (8,8-57,10) 89 (таблица 17). В положении стоя - 41,3 (20-50,3) 108 и 25,6 (8,8-54,7) 77, в положении лежа - 1,2 (0-3,4) 5 и 2,5 (0-3,4) 5 у пациентов с рецидивом заболевания и с впервые выявленной ГЭРБ соответственно.

Общее количество слабокислых рефлюксов с основной группе составило 16,5 (13,3-32,9) 56, в контрольной - 14,7 (8-38,9) 51,1. В положении стоя - 14,9 (10,4-31,8) 54 и 12,8 (8-35,5) 46,1, в положении лежа - 1,2 (0-3,4) 5 и 2,5 (0-3,4) 5 соответственно.

Таблица 17. Распределение рефлюксов по кислотности по данным 24-часовой рН- импедансометрии

	Основная группа			Контрольная группа		
	Кислые	Слабо-кислые	Слабо-щелочные	Кислые	Слабо-кислые	Слабо-щелочные
Стоя						
Медиана	41,3	14,9	0	25,6	12,8	0
25-75	20-50,3	10,4-31,8	0	8,8-54,7	8-35,5	0
95	108	54	2	77	46,1	0
кислые рефлюксы – p=0,2 слабокислые рефлюксы – p=0,5						
Лежа						
Медиана	2,1	1,2	0	0	2,5	0
25-75	0-5,5	0-3,4	0	0-2,3	0-3,4	0
95	7,8	5	0	12	5	0
кислые рефлюксы – p=0,09 слабокислые рефлюксы – p=0,96						
Общее						
Медиана	41,3	16,5	0	26,3	14,7	0
25-75	22,2-	13,3-32,9	0	8,8-	8-38,9	0
95	53,6 109,4	56	2	57,10 89	51,1	0
кислые рефлюксы – p=0,16 слабокислые рефлюксы – p=0,46						

Применение 24- часовой рН- импедансометрии позволило также сравнить общее количество рефлюксов в зависимости от их физических свойств (жидкие, газовые, смешанные), а также в положении стоя и лежа (таблица 18). Общее число жидких рефлюксов в основной группе составило 13,2 (7,6-25,5) 58,7, в положении стоя - 11,7 (6,6-21,2) 54,1, лежа - 2,1 (1,1-4,6) 6,6. В контрольной группе: общее количество - 12,5 (4,2-22,1) 27; стоя - 7,5 (3,1-19,9) 21,0; лежа - 1,2 (0-5,0) 8,0.

У пациентов с рецидивом заболевания общее число газовых рефлюксов было равно 23,2 (15,9-42,5) 69,6, в положении стоя - 21,5 (15,1-35,9) 64,9, лежа - 1,1 (0-4,2) 18,1. Группа больных с впервые выявленной ГЭРБ по этим показателям статистически не отличалась: всего рефлюксов - 24,7 (1,0-43,5) 95,4, лежа - 27,4 (0 - 43,5) 84,9, стоя - 1,0 (8,2-10,5) 27,4.

В основной группе общее количество смешанных рефлюксов составило 44,6 (28,5-63,8) 100,5, в контрольной - 39,9 (25,2-52,6) 70. В положении стоя – 38 (27,4-61,4) 98,1 и 39,9 (22,7-52,6) 66,0, в положении лежа - 2,1 (0-3,3) 7,6 и 1,2 (0-2,5) 4,0, соответственно. Таким образом, не было достигнуто уровня статистически значимой разницы между группами при сравнении количества смешанных рефлюксов.

Таблица 18. Распределение рефлюксов по составу по данным 24-часовой рН- импедансометрии

	Основная группа			Контрольная группа		
	Жидкие	Газовые	Смешанные	Жидкие	Газовые	Смешанные
Стоя						
Медиана	11,7	21,5	38	7,5	27,4	39,9
25-75	6,6-21,2	15,1-35,9	27,4-61,4	3,1-19,9	0 -43,5	22,7-52,6
95	54,1	64,9	98,1	21,0	84,9	66,0
жидкие рефлюксы – $p=0,17$ газовые рефлюксы - $p=0,82$ смешанные рефлюксы - $p=0,5$						
Лежа						
Медиана	2,1	1,1	2,1	1,2	1,0	1,2
25-75	1,1-4,6	0-4,2	0-3,3	0-5,0	8,2-10,5	0-2,5
95	6,6	18,1	7,6	8,0	27,4	4,0
жидкие рефлюксы - $p=0,71$ газовые рефлюксы – $p=0,99$ смешанные рефлюксы – $p=0,64$						
Общее						
Медиана	13,2	23,2	44,6	12,5	24,7	39,9
25-75	7,6-25,5	15,9-42,5	28,5-63,8	4,2-22,1	1,0-43,5	25,2-52,6
95	58,7	69,6	100,5	27	95,4	70
жидкие рефлюксы – $p=0,27$ газовые рефлюксы – $p=0,95$ смешанные рефлюксы – $p=0,43$						

Анализ данных 24 - часовой рН - импедансометрии позволил сравнить показатели общего времени экспозиции кислого болюса в проксимальном и дистальном отделах (на высоте 5 см и 15 см соответственно над краем НПС). При сравнении общего времени экспозиции кислого болюса в дистальном отделе пищевода в горизонтальном положении не было достигнуто уровня статистической значимости между двумя группами: основная группа - 0,15

(0,07-0,23) 0,68, контрольная группа - 0,11 (0,05-0,17) 0,36 (таблица 19). Однако, в положении стоя у лиц с рецидивом заболевания этот показатель был более чем в 2 раза выше (1,6 (0,54-1,66) 2,7) по сравнению с лицами с впервые выявленной ГЭРБ (0,57 (0,3-0,68) 1,6), $p=0,04$. Общее время экспозиции болюса в дистальном отделе пищевода также было выше у исследуемых основной группы и составило 0,75 (0,4-1,11) 1,91, по сравнению с контрольной - 0,395 (0,25-0,58) 1,15, $p=0,04$.

Таблица 19. Общее время экспозиции кислого болюса на высоте 5 см над краем НПС

Положение тела	Центильный интервал	Основная группа	Контрольная группа	p
Стоя	Медиана 25-75 процентиль 95 процентиль	1,6 0,54-1,66 2,7	0,57 0,3-0,68 1,6	0,04
Лежа	Медиана 25-75 процентиль 95 процентиль	0,15 0,07-0,23 0,68	0,11 0,05-0,17 0,36	0,57
Общее	Медиана 25-75 процентиль 95 процентиль	0,75 0,4-1,11 1,91	0,395 0,25-0,58 1,15	0,04

При сравнении общего времени экспозиции кислого болюса на высоте 15 см над краем НПС в проксимальном отделе пищевода были выявлены различия между группами в положении стоя: основная группа - 0,26 (0,09-0,66) 1,4, контрольная - 0,165 (0,04-0,21) 0,21 ($p=0,03$) (таблица 20).

Таблица 20. Общее время экспозиции кислого болюса на высоте 15 см над краем НПС

Положение тела	Центильный интервал	Основная группа	Контрольная группа	р
Стоя	Медиана 25-75 процентиль 95 процентиль	0,26 0,09-0,66 1,4	0,165 0,04-0,21 0,21	0,03
Лежа	Медиана 25-75 процентиль 95 процентиль	0,04 0-0,09 0,21	0,025 0-0,06 0,1	0,71
Общее	Медиана 25-75 процентиль 95 процентиль	0,2 0,06-0,48 0,97	0,11 0,04-0,16 0,18	0,04

Общее время экспозиции болюса на высоте 15 см над краем НПС у пациентов с рецидивом заболевания составило 0,2 (0,06-0,48) 0,97 секунд, у лиц с впервые выявленной ГЭРБ - 0,11 (0,04-0,16) 0,18 секунд, $p=0,04$. Однако различия между группами не достигли уровня статистической значимости.

24- часовая экспозиция (нахождение в пищеводе) болюса в минутах в положении стоя у исследуемых основной группы составила 11 (8-19) 33 минут, контрольной группы – 9 (4-19) 41 минут (таблица 21). В положении лежа – 1 (0-2) 11 и 1 (1-2) 4 мин, соответственно. Общее время нахождения кислого болюса в пищеводе – 14 (9-20) 36 минут и 10 (5-20) 45 минут, соответственно.

Анализ процентного отношения 24- часовой экспозиции болюса (общая) не выявил разницы между основной (1,0 (0,6-1,4) 2,5%) и контрольной (0,7 (0,3-1,4) 3,29%) группами. В положении стоя экспозиция болюса у пациентов с рецидивом заболевания составила 1,3 (0,8-1,9) 3,3%, у лиц с впервые выявленной ГЭРБ - 0,9 (0,4-2,0) 2,99%. В положении лежа - 0,2 (0,1-0,4) 1,6% и 0,2 (0,1-0,3) 0,4%, соответственно.

Таблица 21. Экспозиция болюса по данным 24-часовой рН-импедансометрии

Центильный интервал	Экспозиция болюса, мин		р	Экспозиция болюса, %		р
	Основная группа	Контрольная группа		Основная группа	Контрольная группа	
Стоя			0,35			0,23
Медиана	11	9		1,3	0,9	
25-75	8-19	4-19		0,8-1,9	0,4-2,0	
95	33	41		3,3	2,99	
Лежа			0,69			0,68
Медиана	1	1		0,2	0,2	
25-75	0-2	1-2		0,1-0,4	0,1-0,3	
95	11	4		1,6	0,4	
Общее			0,31			0,21
Медиана	14	10		1,0	0,7	
25-75	9-20	5-20		0,6-1,4	0,3-1,4	
95	36	45		2,5	3,29	

24- часовая рН- импедансометрия также позволила оценить у исследуемых химический клиренс (таблица 22). Анализ данных показал, что в положении стоя химический клиренс у пациентов основной группы составил 12 (11-13) 15 секунд, контрольной - 11,5 (9,5-17,5) 20 секунд. В положении лежа – 12 (9-14) 21,5 сек. и 19 (15-20,48) 23,5 сек., соответственно. Общий химический клиренс у больных с рецидивом заболевания – 12 (11-13) 15 сек., с впервые выявленной ГЭРБ – 11,5 (10-18) 21,78 сек. Таким образом, сравнительный анализ показал, что различия между группами достигли уровня статистической значимости только по показателям химического клиренса в положении лежа ($p=0,001$), когда наблюдалось замедление клиренса пищевода в положении лежа у исследуемых контрольной группы.

Таблица 22. Химический клиренс (сек) по данным 24- часовой рН-импедансометрии

Положение тела	Центильный интервал	Основная группа	Контрольная группа	p
Стоя	Медиана 25-75 95	12 11-13 15	11,5 9,5-17,5 20	0,75
Лежа	Медиана 25-75 95	12 9-14 21,5	19 15-20,48 23,5	0,001
Общее	Медиана 25-75 95	12 11-13 15	12 10-18 21,78	0,6

Анализ кислотности желудка по данным 24- часовой рН- метрии показал, что нормацидность наблюдалась у 22,6% пациентов основной группы и 33,3%- контрольной (рисунок 42). Тенденция к гиперацидности – у 51,6 и 41,7% соответственно. У 22,6% больных с рецидивом заболевания и 25% лиц с впервые выявленной ГЭРБ обнаруживалась гиперацидность. В обеих группах ни у кого не было обнаружено пациентов с анацидностью, в то время как гипоацидность была диагностирована у 3,2% исследуемых основной группы.

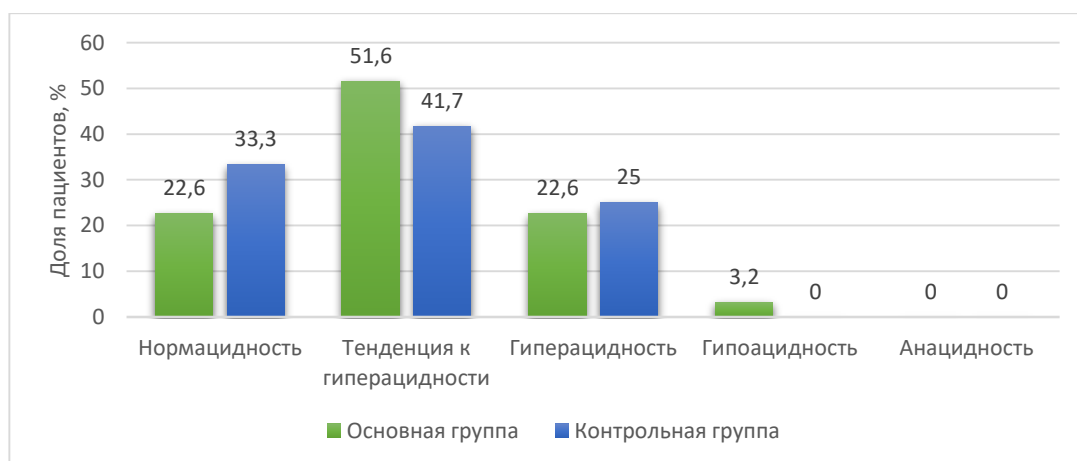


Рисунок 42. Кислотность желудка у пациентов основной и контрольной групп

Нами также были оценены показатели рН в желудке в дневное и ночное время, а также после еды (таблица 23). Общая кислотность желудка у

пациентов основной группы составила 1,3 (1-1,6) 2,5, у контрольной - 1,6 (0,9-1,9) 4,3. Показатели рН после еды у 3,35 (1,95-4,0) 4,6 и 3,4 (2,0-4,8) 5,7, соответственно. рН в желудке у пациентов основной группы составлял 1,35 (1,1-1,8) 2,7 в дневное время и 0,95 (0,9-1,4) 3,3 в ночное время, у больных контрольной группы 1,3 (0,9-2,2) 3,4 и 1,2 (0,9-2,1) 7,5, соответственно. Различия не достигли уровня статистической значимости.

Таблица 23. Показатели рН в желудке у больных ГЭРБ

	Центильный интервал	Основная группа	Контрольная группа	р
Стоя	Медиана 25-75 95	1,35 1,1-1,8 2,7	1,3 0,9-2,2 3,4	0,79
Лежа	Медиана 25-75 95	0,95 0,9-1,4 3,3	1,2 0,9-2,1 7,5	0,44
Во время еды	Медиана 25-75 95	3,35 1,95-4,0 4,6	3,4 2,0-4,8 5,7	0,51
Общее	Медиана 25-75 95	1,3 1-,1,6 2,5	1,6 0,9-1,9 4,3	0,41

3.6. Микробиота пищевода у пациентов с рецидивом гастроэзофагеальной рефлюксной болезни

В данном исследовании оценивалась полостная микробиота, так как в качестве материала для анализа использовались пищеводная слизь и желудочное содержимое, а не биоптаты слизистой оболочки, с помощью которых можно идентифицировать пристеночную микробиоту. Микробиота пищевода была изучена у 14 больных с неэрозивной формой ГЭРБ: из них женщин - 7, мужчин – 7.

Преобладающее большинство микроорганизмов, выявленных с помощью метода секвенирования 16S рибосомальной РНК, относились к домену *Bacteria*

(99%) согласно трехдоменной система Карла Вёзе [142, 143]. Менее 1% микроорганизмов в пищеводе составили археи.

В контрольную группу вошли 6 здоровых добровольцев сопоставимых по полу и возрасту без клинических и/или эндоскопических признаков ГЭРБ.

В пищеводе у мужчин и женщин с рецидивирующим течением ГЭРБ содержание наиболее часто встречающихся бактерий типов *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* и *Proteobacteria* не различалось (рисунок 43). Но было выявлено преобладание у мужчин *Candidatus Saccharibacteria (TM7)* по сравнению с женщинами (7,9% и 2,2%, соответственно, $p=0,024$), а также *Verrucomicrobia* ($p=0,017$), содержание которых не превышало 1%.

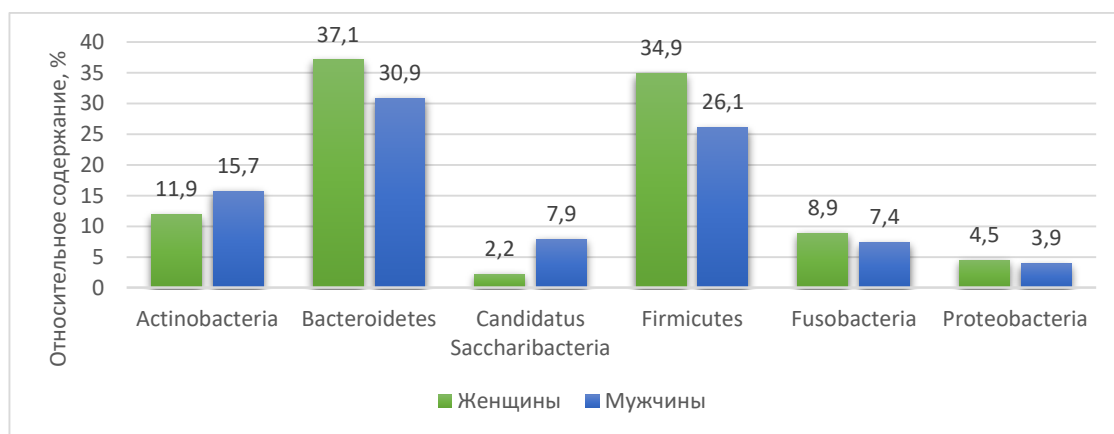


Рисунок 43. Сравнительная характеристика типов бактерий в дистальной части пищевода у мужчин и женщин с рецидивом ГЭРБ

Сравнительный анализ наиболее часто встречающихся в пищеводе семейств не выявил статистически значимых различий у мужчин и женщин. Группы различались лишь по относительному содержанию *Clostridiales Insertae*, содержание которого в пищеводе составляло менее 1% и было выше у женщин ($p=0,04$) (рисунок 44).

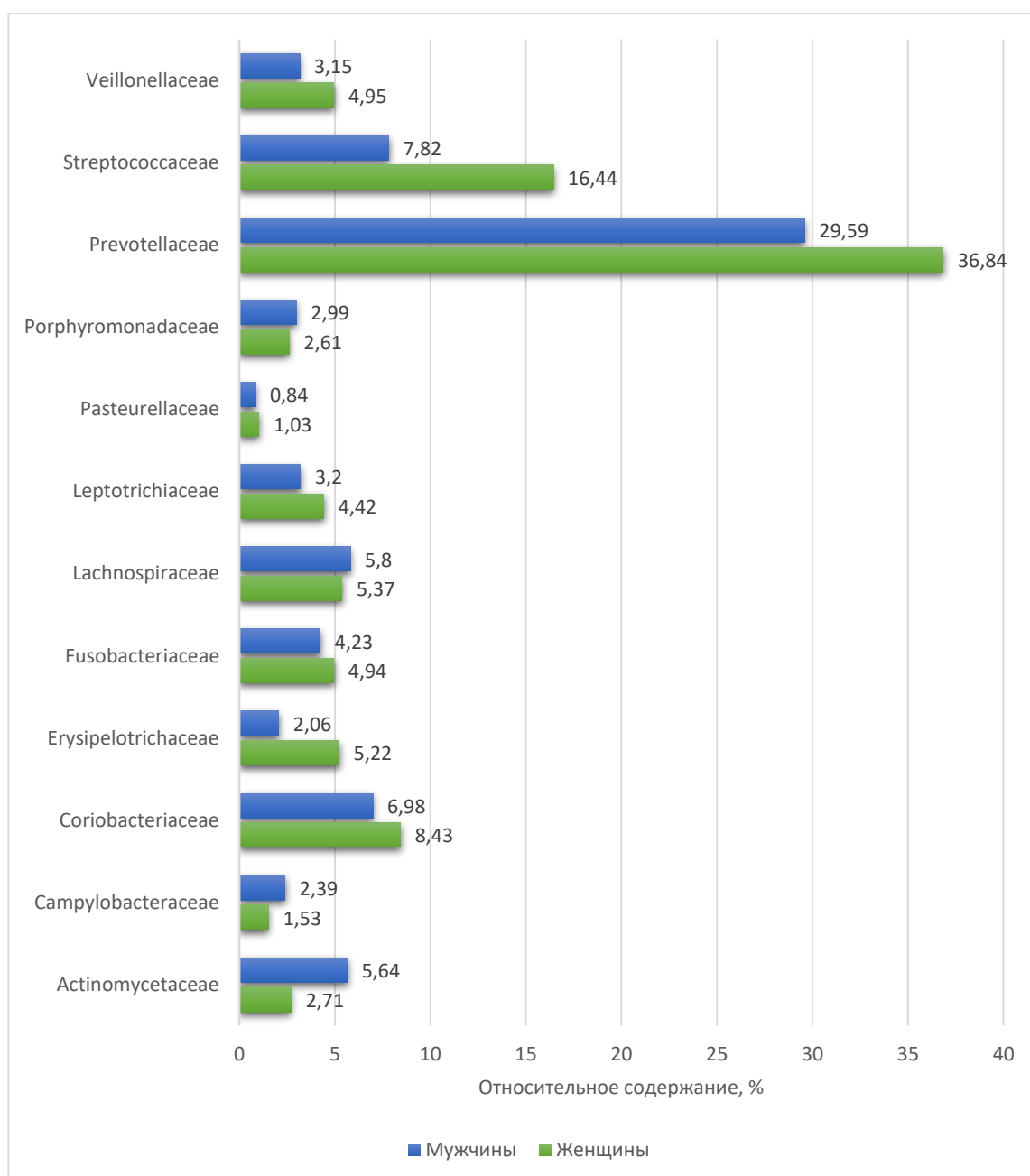


Рисунок 44. Сравнение основных бактериальных семейств в дистальной части пищевода у мужчин и у женщин с рецидивом ГЭРБ

Кроме того, мы провели сравнительный анализ микробиоты пищевода у мужчин и женщин в зависимости от содержания грамположительных и грамотрицательных бактерий (таблица 24).

Таблица 24. Сравнительная характеристика относительного содержания грамположительных и грамотрицательных бактерий в образцах пищеводной слизи у больных с рецидивом ГЭРБ и здоровых добровольцев

Окраска по Граму	Центильный интервал	Здоровые	Больные	p
Грамположительные	Медиана	32,48	29,04	p=0,29
	25-75	29,48-42,39	20,85-36,44	
	95	50,90	50,18	
Грамотрицательные	Медиана	65,82	71,08	p=0,34
	25-75	59,79-70,91	60,24-33,84	
	95	77,54	97,91	

Таким образом, исходя из полученных данных, разница между группами по относительному содержанию грамположительных и грамотрицательных бактерий в пищеводе не достигла статистически значимого уровня.

Секвенирование 16S рибосомальной РНК образцов пищеводной слизи позволило идентифицировать около 30 типов бактерий в пищеводе. Анализ полученных данных показал, что в преобладающем большинстве случаев в пищеводе как у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ, так и у здоровых лиц встречались следующие типы бактерий: *Bacteroidetes*, относительное содержание которых составило 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%) (рисунок 45). Другие типы бактерий были представлены в пищеводе в относительном количестве менее 1 %.

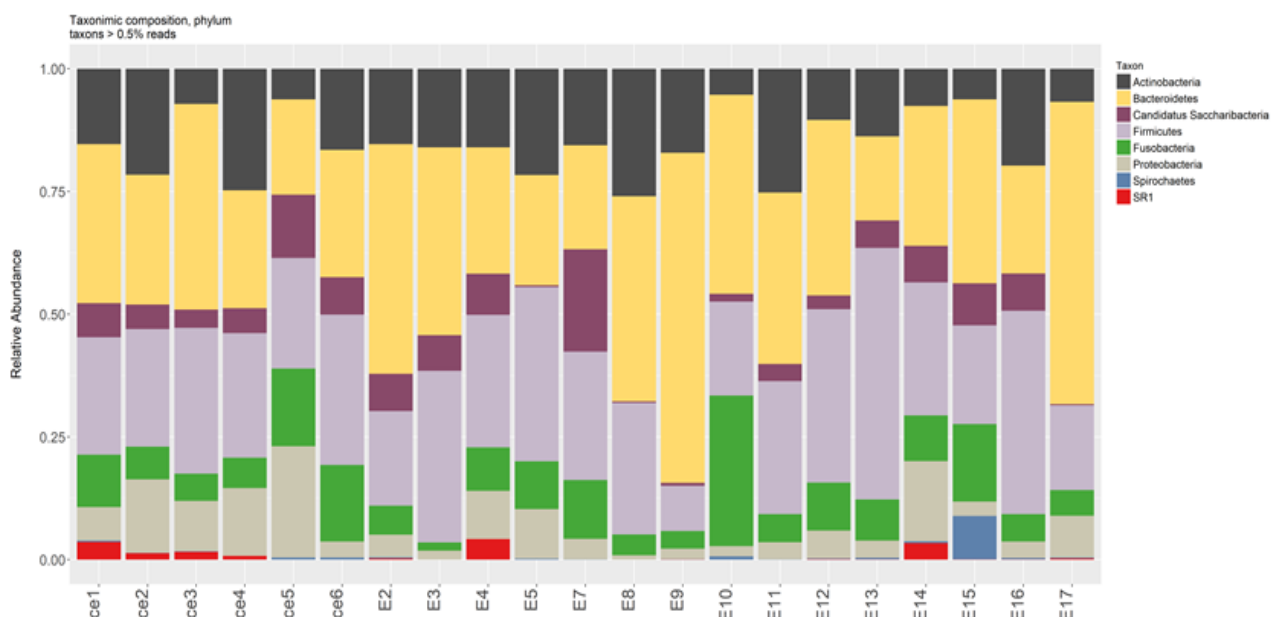


Рисунок 45. Относительное содержание типов бактерий в пищеводе у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ (Е) и здоровых добровольцев (ce)

В пищеводе у исследуемых идентифицировано более 170 бактериальных семейств, относительное содержание большинства из которых не превышает 1%. В преобладающем большинстве полостная микробиота у пациентов с рецидивом ГЭРБ представлена грамотрицательными бактериями, относящимися к семействам *Prevotellaceae* (36,8%), *Fusobacteriaceae* (4,2%), *Veillonellaceae* (4,2%), *Leptotrichiaceae* (3,7%), *Porphyromonadaceae* (2,6%), *Campylobacteraceae* (2,1%) и грамположительными бактериями *Streptococcaceae* (11,0%), *Coriobacteriaceae* (7,2%), *Lachnospiraceae* (5,4%), *Actinomycetaceae* (5,1%), *Erysipelotrichaceae* (2,1%) (рисунок 46).

Наиболее распространенными микроорганизмами в пищеводе у здоровых добровольцев являются грамотрицательные бактерии, относящиеся к семействам *Prevotellaceae* (22,2%), *Fusobacteriaceae* (7,4%), *Porphyromonadaceae* (4,5%), *Pasteurellaceae* (3,9%), *Neisseriaceae* (2,5%), *Veillonellaceae* (3%), *Campylobacteraceae* (2,8%) и грамположительные - *Streptococcaceae* (в среднем 9,8%), *Coriobacteriaceae* (10,5%), *Lachnospiraceae* (4,2%), *Actinomycetaceae* (3,7%).

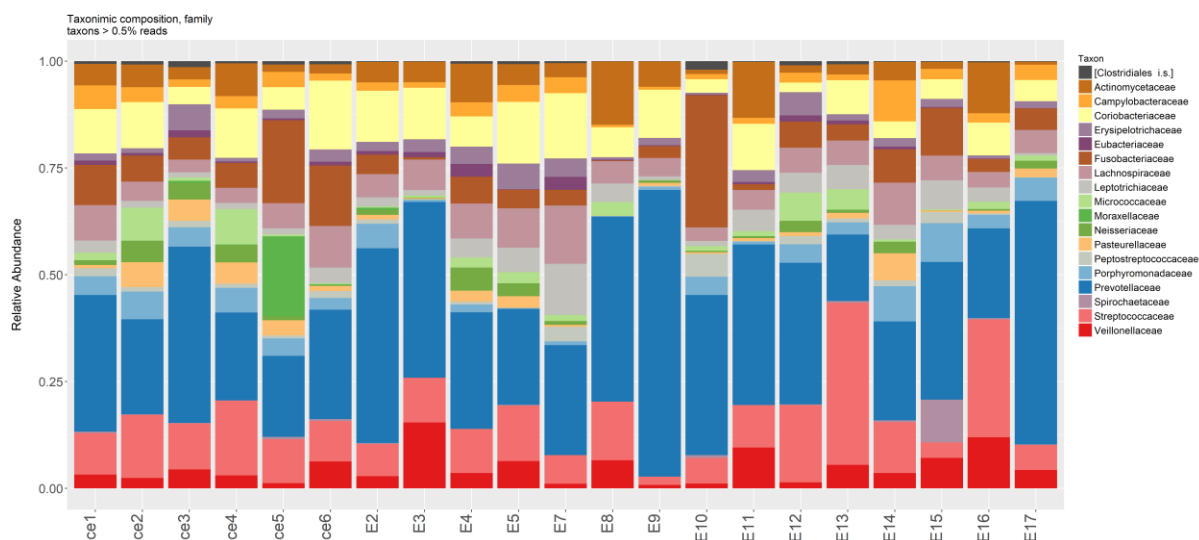


Рисунок 46. Относительное содержание основных бактериальных семейств в пищеводе у больных с рецидивом ГЭРБ (Е) и здоровых добровольцев (се)

Сравнительный анализ основных типов бактерий у больных и здоровых выявил снижение относительного содержания *Proteobacteria* у первых (в среднем 3,5% и 11,7%, соответственно, $p = 0,04$) (рисунок 47А).

При сравнении относительного количества бактериальных семейств в пищеводе у больных и здоровых выявлено большее число различий между двумя группами (рисунок 47В). В пищеводе у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ по сравнению со здоровыми добровольцами идентифицировано меньше бактерий семейств *Acetobacteraceae*, *Moraxellaceae*, *Pasteurellaceae*, *Rhodocyclaceae*, *Bdellovibrionaceae*, относящихся к типу *Proteobacteria*, а также *Bacillaceae* и *Clostridiales Insertae Sedis XI* типа *Firmicutes* и *Fusobacteriaceae* (тип *Fusobacteria*) ($p < 0,05$).

Типы бактерий	LogFC	CE (rel. LogFC)	E (rel. LogFC)	среднее (CE)	среднее (E)
Proteobacteria	-1.12			1166.7	530.7
Bacteroidetes	0.36			2779.4	3581.7
Absconditabacteria (SR1)	-1.00			119.8	55.1
Candidatus Saccharibacteria	-0.28			667.6	547.9
Fusobacteria	-0.12			978.7	899.8
Tenericutes	0.98			9.1	27.6
Firmicutes	0.12			2548.3	2768.9
Spirochaetes	1.44			20.1	72.1
Nitrospirae	0.13			0.0	0.9
Thaumarchaeota	0.08			0.0	0.5
Chlamydiae	-0.02			0.1	0.0
candidate division WPS-1	0.03			0.0	0.2
Acidobacteria	-0.32			15.3	10.2
Synergistetes	1.24			10.2	37.8
Pacearchaeota	0.02			0.0	0.1
A Latescibacteria	0.01			0.0	0.1

Семейства бактерий	LogFC	CE (rel. LogFC)	E (rel. LogFC)	среднее (CE)	среднее (E)
Leptotrichiaceae	1.01			168.9	349.7
Pasteurellaceae	-1.23			293.5	119.7
Prevotellaceae	0.50			2225.3	3156.1
Veillonellaceae	0.71			287.3	475.8
Fusobacteriaceae	-0.56			805.9	545.2
Neisseriaceae	-0.80			213.0	118.0
Porphyromonadaceae	-0.46			389.0	279.8
Moraxellaceae	-4.02			230.8	4.8
Succinivibrionaceae	-0.90			8.6	0.0
Lachnospiraceae	0.22			482.9	565.2
Micrococcaceae	-0.71			277.8	165.8
Actinomycetaceae	0.48			350.6	493.5
Campylobacteraceae	-0.19			262.7	229.9
Carnobacteriaceae	-0.50			54.2	35.3
Cellulomonadaceae	-0.24			1.8	0.0
Bdellovibrionaceae	-1.13			14.3	1.1
Mycoplasmataceae	0.98			9.1	27.6
Erysipelotrichaceae	0.15			200.8	223.9
Alcaligenaceae	-0.10			0.7	0.0
Streptococcaceae	0.10			1007.7	1083.8
Sphingomonadaceae	-1.00			18.7	4.3
Caulobacteraceae	-0.97			16.0	3.3
Syntrophaceae	0.12			0.0	0.9
Coriobacteriaceae	-0.16			816.0	731.3
Spirochaetaceae	1.44			20.1	71.5
Planococcaceae	-0.08			0.6	0.0
Staphylococcaceae	-2.24			48.4	2.4
Peptostreptococcaceae	-0.04			108.2	104.9
B Flavobacteriaceae	-0.11			43.2	39.3

Рисунок 47. Сравнение основных типов (А) и семейств (В) бактерий в образцах пищеводной слизи у больных с рецидивом ГЭРБ (Е) и здоровых (СЕ). LogFC – двоичный логарифм отношения средней доли бактерий,

относящихся к данному типу/семейству, у больных ГЭРБ к здоровым добровольцам. *rel. LogFC* – двоичный логарифм отношения содержания доли бактерий, относящихся к данному типу/семейству, у конкретного индивидуума к усреднённому значению этой доли у всех участников исследования (здоровые + больные); шкала $-2 \dots +2$, т.е. от 4-кратного снижения до 4-х кратного повышения; красным обозначены значения выше среднего, синим - ниже среднего.

Корреляционный анализ между основными типами бактерий и типами рефлюксов выявил отрицательную корреляцию между количеством слабокислых рефлюксов и содержанием *Actinobacteria* ($r = -0,62$, $p = 0,03$) и положительную с *Candidatus Saccharibacteria* ($r = 0,59$, $p = 0,04$) (рисунок 48).

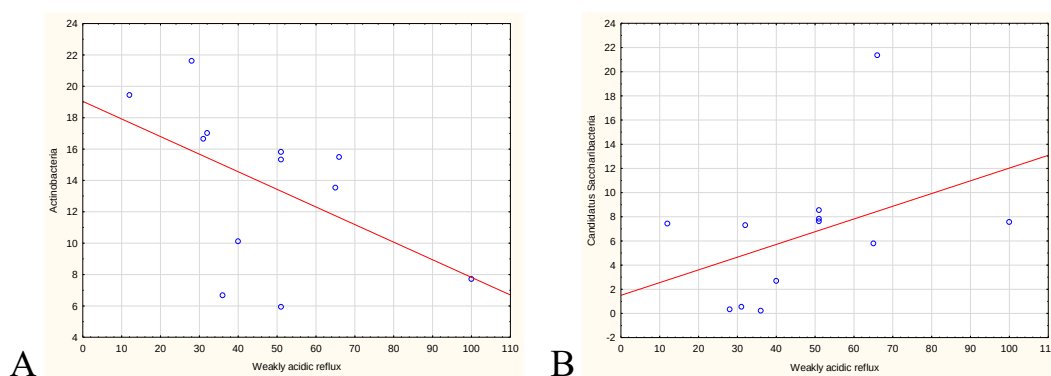


Рисунок 48. Корреляции между количеством слабокислых рефлюксов и относительным содержанием *Actinobacteria* (A) и *Candidatus Saccharibacteria* (B)

Взаимосвязи между основными наиболее часто встречающимися типами бактерий в пищеводе (*Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacterium*) и общим количеством кислых рефлюксов выявлено не было. Однако при проведении корреляционного анализа между количеством рефлюксов в горизонтальном и вертикальном положении тела и типами бактерий, выявлена отрицательная связь между *Proteobacteria* (грамотрицательные) и кислыми рефлюксами в положении лежа ($r = -0,58$, $p = 0,04$) (рисунок 49).

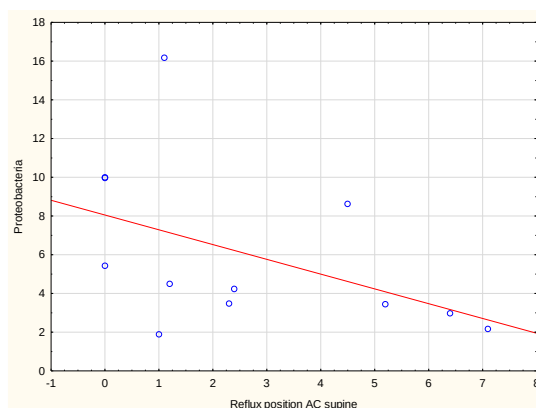


Рисунок 49. Корреляция между относительным содержанием *Proteobacteria* и количеством кислых рефлюксов в горизонтальном положении

Не было выявлено корреляции между типами бактерий в пищеводе и индексом DeMeester, общим количеством рефлюксов, временем $\text{pH} < 4,0$ в пищеводе, количеством рефлюксов более 5 минут.

Положительная корреляция наблюдалась между количеством жидких рефлюксов и грамотрицательными бактериями типа *Bacteroidetes* ($r=0,66$, $p=0,02$) и отрицательная - с грамположительными бактериями, относящимися к типу *Firmicutes* ($r=-0,63$, $p=0,03$) (рисунок 50).

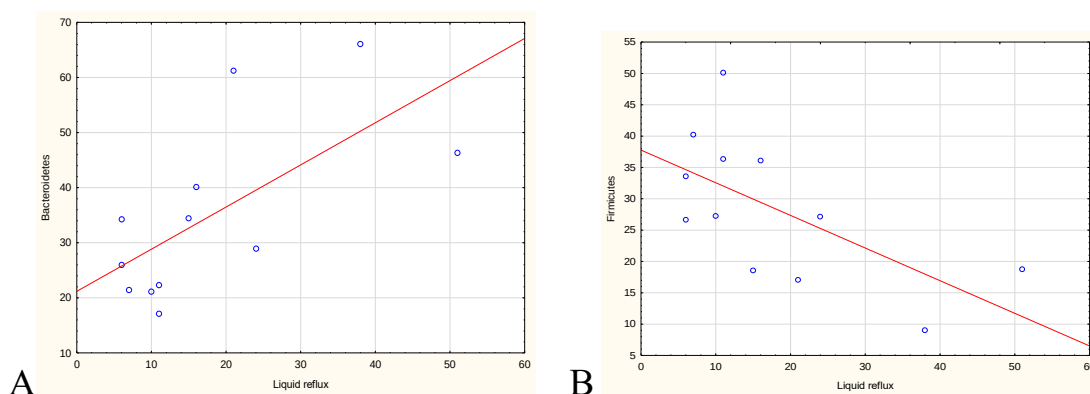


Рисунок 50. Корреляции между количеством жидких рефлюксов и относительным содержанием *Bacteroidetes* (А) и *Firmicutes* (В)

Корреляционный анализ между временем экспозиции болюса выявил отрицательную связь между общим временем экспозиции болюса на высоте 15 см над краем НПС и относительным содержанием грамположительных бактерий типа *Firmicutes* ($r=-0,61$, $p=0,038$) (рисунок 51).

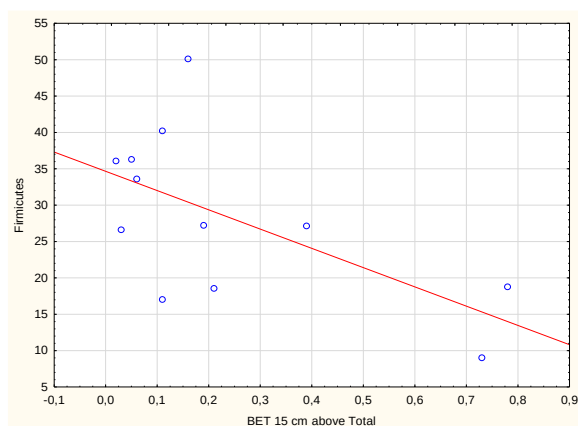


Рисунок 51. Корреляция между относительным содержанием *Firmicutes* и общим временем экспозиции болюса на высоте 15 см над краем НПС

Корреляционный анализ также продемонстрировал положительную взаимосвязь между содержанием в пищеводе грамотрицательных *Bacteroidetes* и 24- часовой экспозицией болюса в положении лежа ($r=0,61$, $p=0,036$) (рисунок 52).

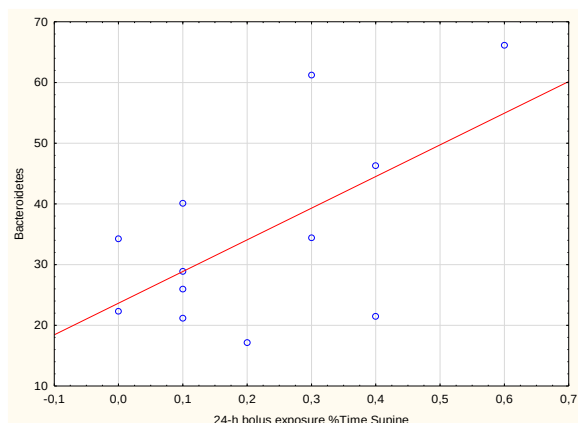


Рисунок 52. Корреляция между 24- часовой экспозицией болюса в положении лежа и относительным содержанием *Bacteroidetes*

Корреляционный анализ между относительным содержанием наиболее распространенных бактериальных семейств в пищеводе и показателями двигательной функции пищевода выявил отрицательную корреляцию между количеством грамотрицательных *Fusobacteria* и давлением покоя ВПС ($r=-0,65$, $p=0,02$) (рисунок 53).

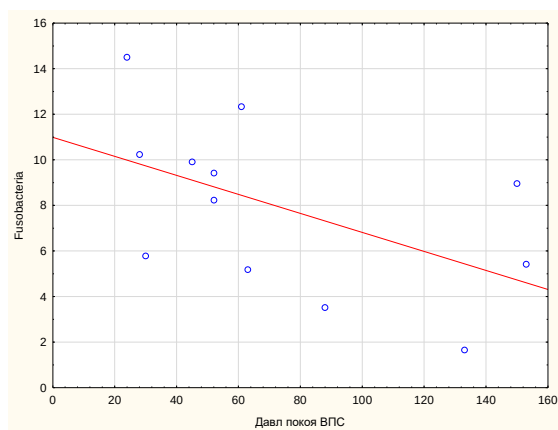


Рисунок 53. Корреляция между относительным содержанием *Fusobacteria* в пищеводе и давлением покоя ВПС

3.7. Микробиота желудка у пациентов с рецидивом гастроэзофагеальной рефлюксной болезни

14 пациентам с неэрозивной формой ГЭРБ и 6 здоровым добровольцам было выполнено исследование микробиоты в образцах желудочного содержимого. В желудке так же, как и в пищеводе было идентифицировано более 150 различных бактериальных семейств.

Сравнительный анализ относительного содержания в желудке бактерий, относящихся к различным типам, не выявил разницы между мужчинами и женщинами ($p>0,05$) (рисунок 54).

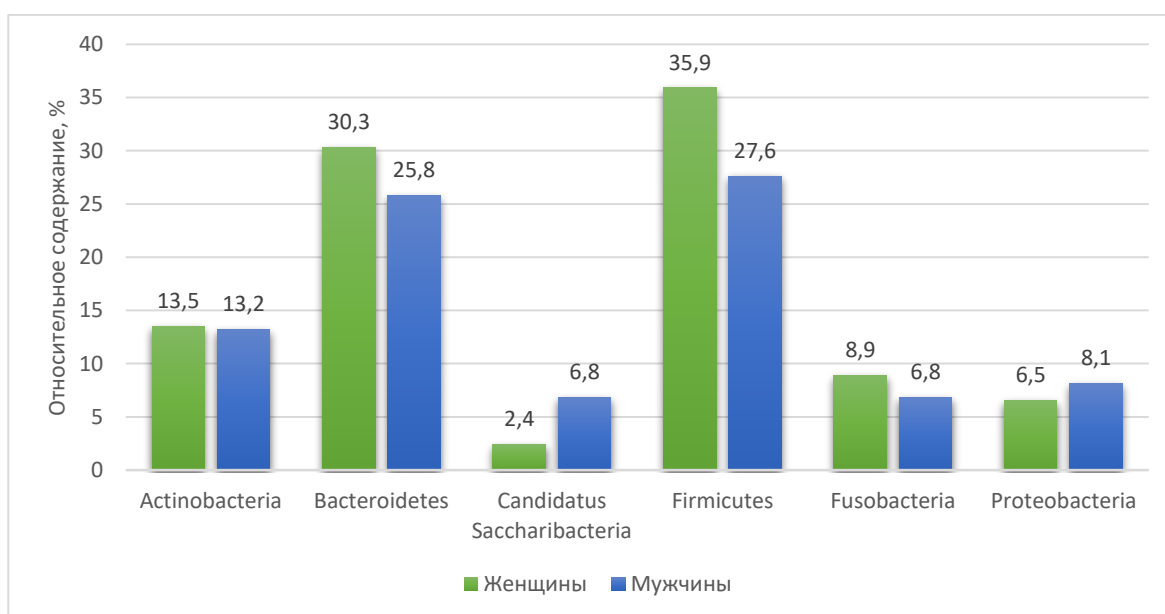


Рисунок 54. Сравнительная характеристика типов бактерий в желудке у мужчин и женщин с рецидивирующим течением ГЭРБ

Анализ данных показал, что в целом бактериальный состав желудка у мужчин и женщин значимо не отличался. Наиболее распространенные семейства, содержание которых составляло более 1%, не зависели от гендерных особенностей (рисунок 55). Исключением являлись *Micrococaceae*, которые у женщин составляли 2,94%, а у мужчин – 0,8% ($p=0,039$). Статистически значимые различия наблюдались в семействах, количество которых не превышало 1%. К ним относятся *Beijerickiaceae*, *Caulobacteraceae*, *Comamonadaceae*, *Methylococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Verrucomicrobiaceae*.

Эти семейства практически не встречались или встречались в очень незначительном количестве у женщин, по сравнению с мужчинами ($p < 0,05$).

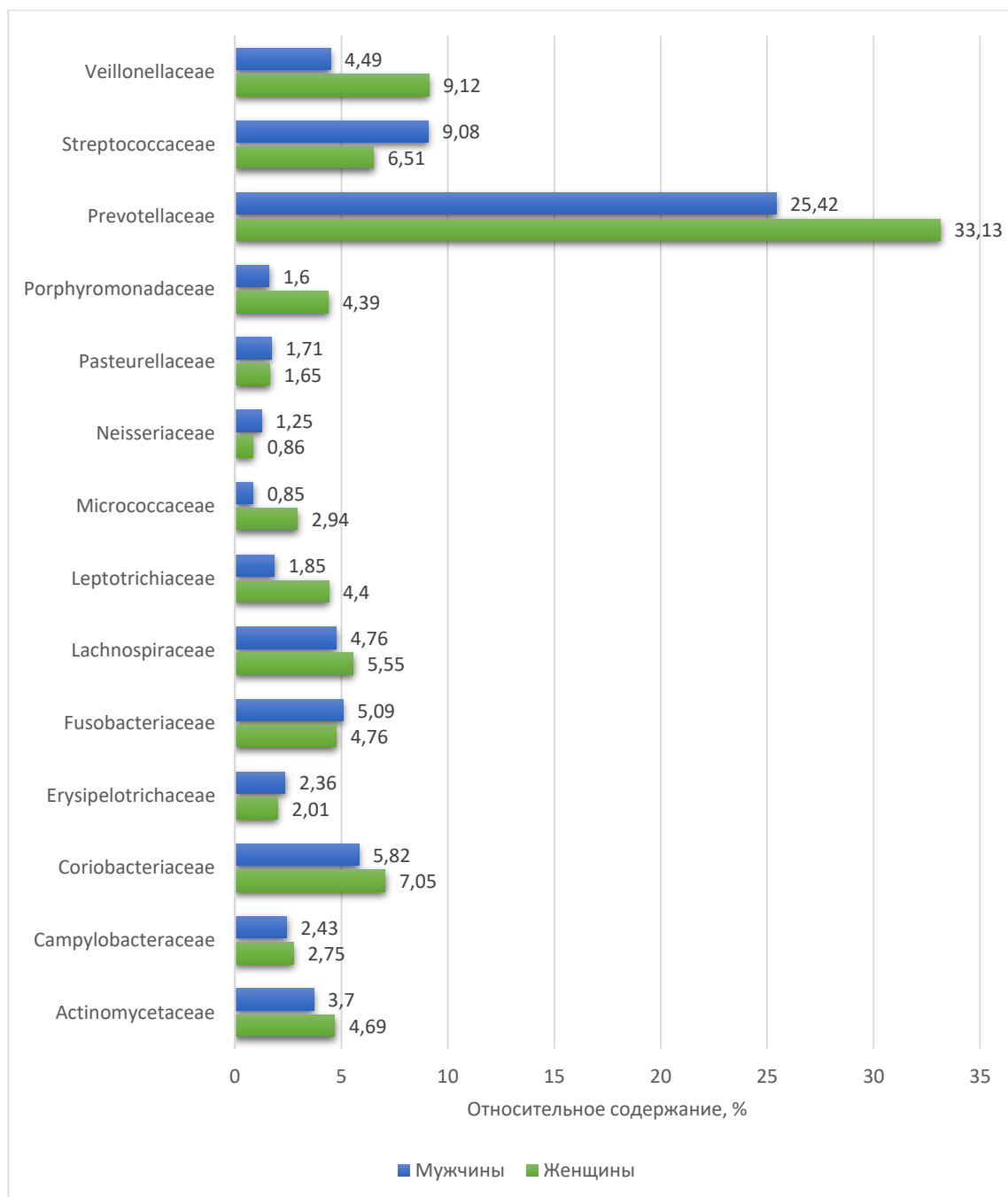


Рисунок 55. Сравнительная характеристика семейств бактерий в желудке у мужчин и женщин с рецидивом ГЭРБ

Анализ данных продемонстрировал, что в желудке у здоровых и больных были обнаружены как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии (таблица 25). Однако при сравнении их относительного содержания, различия между группами не достигли уровня статистической значимости.

Таблица 25. Сравнительная характеристика относительного содержания грамположительных и грамотрицательных бактерий в образцах желудочного содержимого у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ и здоровых добровольцев

Окраска по Граму	Центильный интервал	Здоровые	Больные	p
Грамположительные	Медиана	32,60	31,71	p=0,80
	25-75	27,96-36,18	25,09-36,26	
	95	46,34	39,03	
Грамотрицательные	Медиана	67,84	67,08	p=0,96
	25-75	64,94-72,94	57,36-81,33	
	95	75,35	83,36	

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%) (рисунок 56).

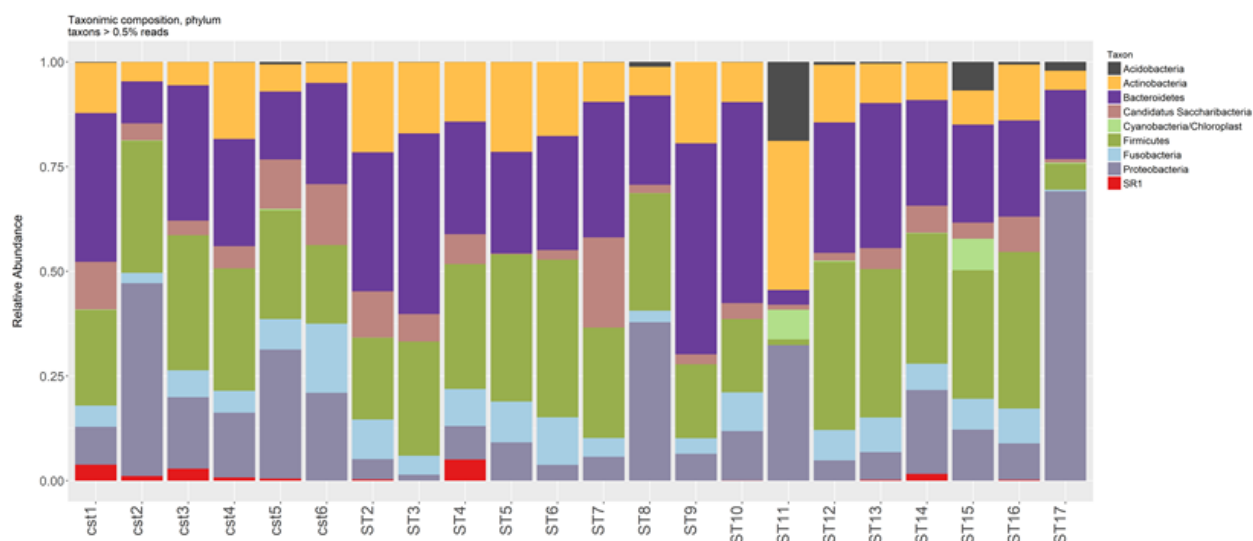


Рисунок 56. Основные типы бактерий в образцах желудочного содержимого у больных с рецидивом ГЭРБ (ST) и здоровых (cst)

Анализ бактериальных семейств в желудке продемонстрировал большое разнообразие грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов (рисунок 57). У здоровых добровольцев среди грамотрицательных бактерий в наибольшем количестве представлены семейства *Prevotellaceae* (19,4%), *Moraxellaceae* (8,7%), *Fusobacteriaceae* (4,8%), *Porphyromonadaceae* (4,6%), *Pasteurellaceae* (3,4%), *Neisseriaceae* (2,1%), *Veillonellaceae* (1,9%), *Campylobacteraceae* (1,8%).

Основными семействами грамположительных бактерий были *Streptococcaceae* (9,7%), *Coriobacteriaceae* (3,17%), *Staphylococcaceae* (3,17%), *Lachnospiraceae* (3,17%), *Actinomycetaceae* (1,7%), *Microccocaceae* (1,1%). Помимо описанных ранее семейств в желудке встречались и другие, однако их относительное содержание составляет менее 1%.

У больных с рецидивирующим течением ГЭРБ анализ полостной микробиоты желудка продемонстрировал преобладание среди грамотрицательных бактерий семейств *Prevotellaceae* (26,4%), *Veillonellaceae* (5,4%), *Fusobacteriaceae* (4,6%), *Porphyromonadaceae* (2,7%), *Leptotrichiaceae* (2,7%), *Campylobacteraceae* (2,4%), *Pasteurellaceae* (1,6%), *Neisseriaceae* (1,2%). Среди грамположительных бактерий наиболее часто встречались представители семейств *Streptococcaceae* (10,4%), *Coriobacteriaceae* (6,1%), *Lachnospiraceae* (4,6%), *Actinomycetaceae* (3,9%), *Erysipelotrichaceae* (2%), *Microccocaceae* (1,4%).

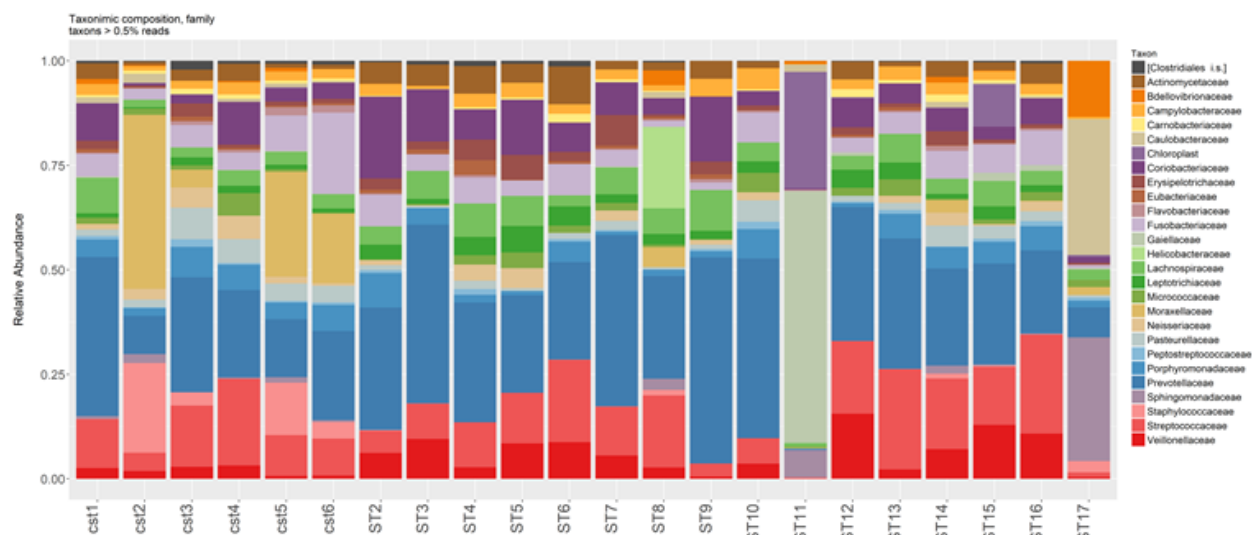


Рисунок 57. Основные бактериальные семейства, идентифицированные в образцах желудочного содержимого у больных с рецидивом ГЭРБ (ST) и здоровых добровольцев (cst)

При сравнении относительного содержания основных типов бактерий в желудке у больных и здоровых добровольцев, у пациентов с рецидивом ГЭРБ выявлено двукратное снижение *Proteobacteria* по сравнению со здоровыми добровольцами ($p=0,04$) (рисунок 58А).

Анализ бактериальных семейств продемонстрировал меньшее количество бактерий семейств *Cardiobacteriaceae*, *Caulobacteraceae*, *Moraxellaceae*, *Pasteurellaceae* и *Pseudomonadaceae*, относящихся к типу *Proteobacteria*, семейств *Bacillaceae* и *Staphylococcaceae* типа *Firmicutes*, а также *Promicromonosporaceae* (тип *Actinobacteria*) у больных ГЭРБ (рисунок 58В) ($p<0,05$). А бактериальные семейства *Leptotrichiaceae* (тип *Fusobacteria*) и *Veillonellaceae* (тип *Firmicutes*) наоборот преобладали у пациентов с рецидивом ГЭРБ по сравнению со здоровыми ($p<0,05$).

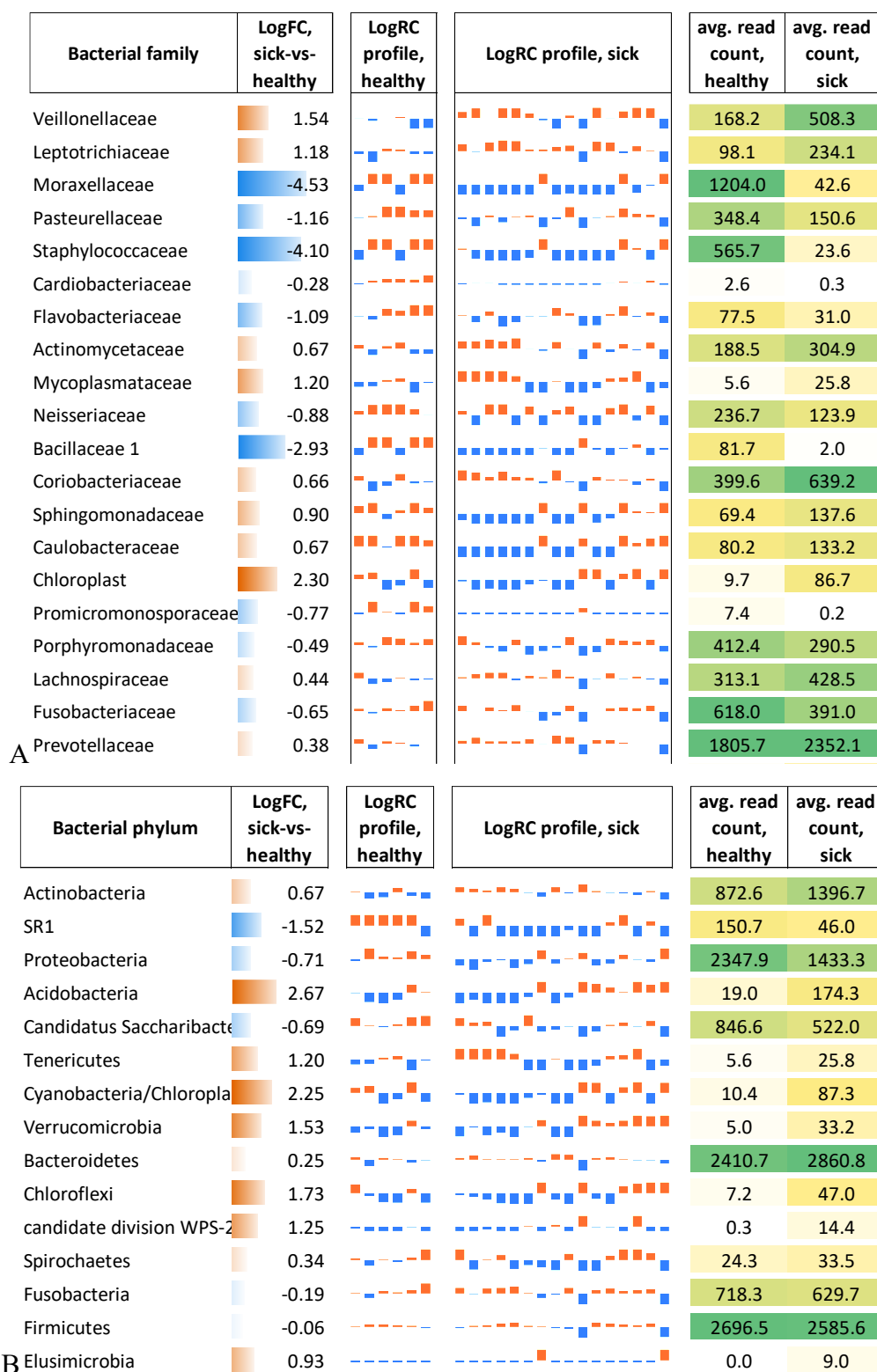


Рисунок 58. Сравнение основных типов (А) и семейств (В) бактерий в образцах желудочного содержимого у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ (ST) и здоровых (CST). *LogFC* – двоичный логарифм отношения средней доли бактерий, относящихся к данному типу/семейству, у больных ГЭРБ к здоровым добровольцам. *rel. LogFC* – двоичный логарифм

отношения содержания доли бактерий, относящихся к данному типу/семейству, у конкретного индивидуума к усреднённому значению этой доли у всех участников исследования (здоровые + больные); шкала -2...+2, т.е. от 4-кратного снижения до 4-х кратного повышения; красным обозначены значения выше среднего, синим - ниже среднего

Корреляционный анализ не выявил связи между показателями pH в желудке (общее, в дневное и ночное время, после еды) и относительным содержанием бактерий типов *Fusobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*. Но была отмечена положительная корреляция между уровнем pH в желудке после еды и *Firmicutes* ($r=0,59$, $p=0,03$) (рисунок 59).

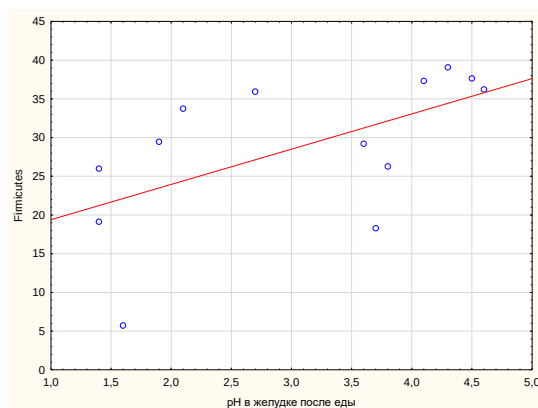


Рисунок 59. Корреляция между pH желудка после еды и относительным содержанием *Firmicutes*

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ

4.1. Влияние ингибиторов протонной помпы и пробиотиков на микробиоту пищевода и желудка

Исследование влияния ИПП и пробиотиков на микробиоту пищевода и желудка было проведено 12 из 14 ранее включенных в исследование пациентов с неэрозивной формой ГЭРБ, которым проведен забор пищеводной слизи и желудочного содержимого с последующим секвенированием 16S рРНК.

Все исследуемые были разделены на 2 группы по 6 человек. Первая группа получала в течение 8 недель ИПП, вторая - ИПП + комбинированный пробиотик (*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 восьминедельного курса лечения всем пациентам был повторно произведен забор образцов пищеводной слизи и желудочного содержимого для дальнейшего исследования микробиоты.

Из группы, получавшей в ИПП + пробиотик, был исключен один пациент ввиду приема антибактериальных препаратов по поводу развития острого воспалительного заболевания верхних дыхательных путей.

4.1.1. Влияние ингибиторов протонной помпы на микробиоту пищевода

Исследование микробиоты пищевода до и после лечения ИПП в течение 8 недель продемонстрировало качественные и количественные различия бактериального состава. На фоне кислотосупрессивной терапии наблюдалось увеличение содержания в пищеводе бактерий типа *Proteobacteria* ($p=0,017$) (рисунок 60).



Рисунок 60. Влияние терапии ИПП на содержание основных типов бактерий в образцах пищеводной слизи до и после лечения ИПП

При анализе изменений бактериальных семейств обращает на себя внимание увеличение на фоне лечения относительного содержания *Bacteroidaceae*, *Bdellovibrionaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Caulobacteraceae*, *Pseudomonadaceae* и *Sphingomonadaceae* ($p < 0,05$) (рисунок 61). В то время как относительное содержание бактерий семейств *Flavobacteriaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Leptotrichiaceae*, *Prevotella* и *Peptococcaceae* 1 снижалось ($p < 0,05$).

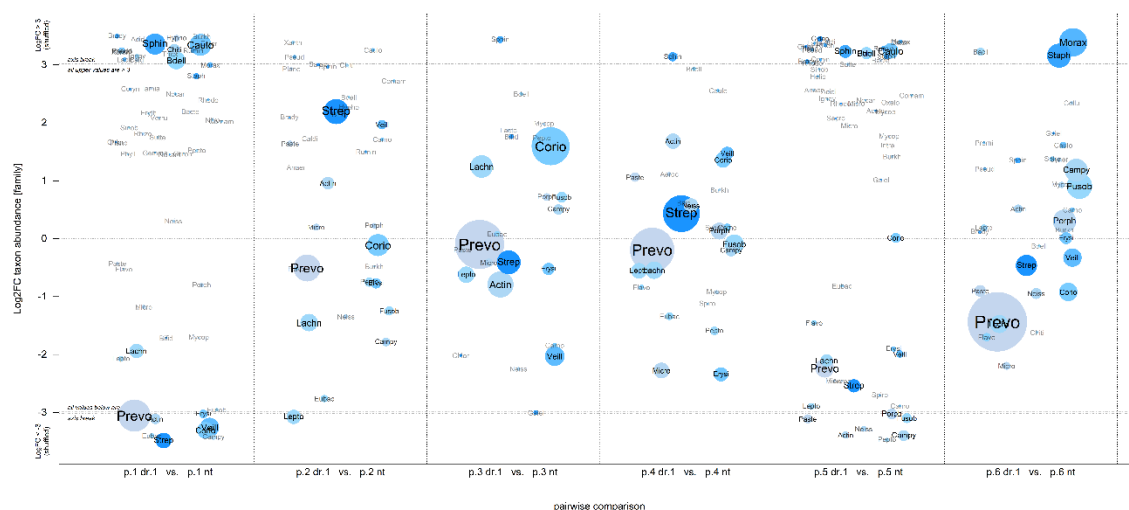


Рисунок 61. Сравнительный анализ бактериальных семейств в пищеводе у больных ГЭРБ до и после лечения ИПП

Общая динамика изменений бактериального состава пищевода на фоне кислотосупрессии представлена в таблице 26.

Таблица 26. Динамика изменений бактериального состава пищевода на фоне приема ИПП у больных ГЭРБ

Типы (окраска по Граму)	Семейства	Повышение (↑), понижение (↓)	p
Actinobacteria (Грам+)	Corynebacteriaceae	↑	p=0,04
Bacteroidetes (Грам-)	Bacteroidaceae	↑	p=0,02
	Flavobacteriaceae	↓	
	Prevotella	↓	
Firmicutes (Грам+)	Erysipelotrichaceae	↓	p=0,04
	Peptococcaceae 1	↓	
Fusobacteria (Грам-)	Leptotrichiaceae	↓	p=0,04
Proteobacteria (Грам-)	Bdellovibrionaceae	↑	p=0,04
	Caulobacteraceae	↑	p=0,02
	Pseudomonadaceae	↑	p=0,04
	Sphingomonadaceae	↑	p=0,02

Сравнительный анализ относительного содержания грамположительных и грамотрицательных бактерий после лечения продемонстрировал тенденцию к снижению последних на фоне терапии ИПП (p=0,07) (таблица 27).

Таблица 27. Сравнительная характеристика относительного содержания грамположительных и грамотрицательных бактерий в образцах пищеводной слизи у больных ГЭРБ до и после лечения ИПП

Окраска по Граму	Центильный интервал	До лечения ИПП	После лечения ИПП	p
Грамположительные	Медиана	31,80	45,29	p=0,34
	25-75	26,85-37,58	28,33-49,93	
	95	39,43	52,59	
Грамотрицательные	Медиана	66,84	62,65	p=0,07
	25-75	61,01-71,06	54,89-71,53	
	95	97,91	80,15	

4.1.2. Изменение микробиоты пищевода при добавлении пробиотиков к терапии ингибиторами протонной помпы

Изменения микробиоты пищевода на фоне восьминедельной терапии ИПП в сочетании с комбинированным пробиотиком были проанализированы у 5 пациентов с рецидивирующим течением ГЭРБ.

Анализ полученных данных продемонстрировал увеличение содержания бактерий, относящихся к типу *Proteobacteria* у больных после лечения с 321% до 10,45%, p=0,03 (рисунок 62).

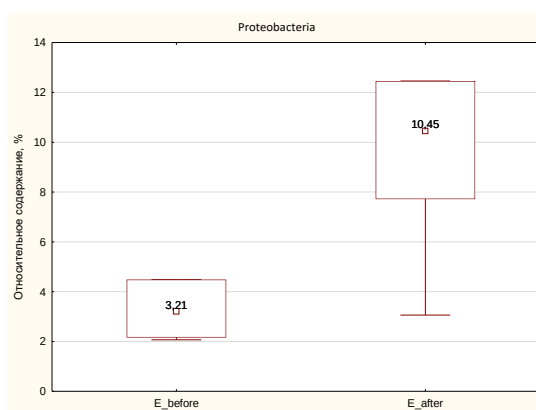


Рисунок 62. Влияние лечения ИПП в комбинации с пробиотиком на относительное содержание *Proteobacteria* в пищеводе

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) (рисунок 63).

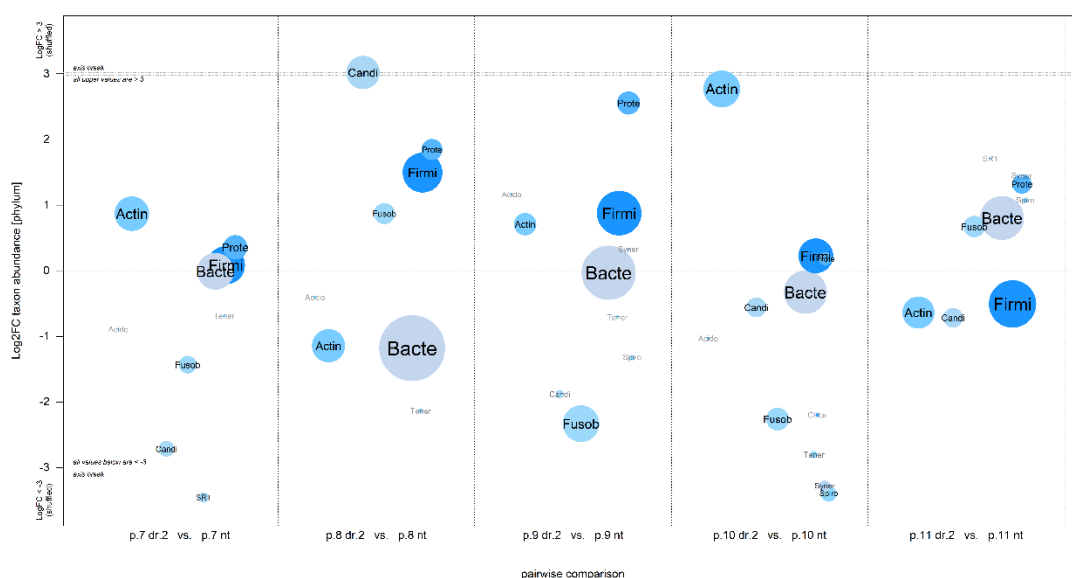


Рисунок 63. Влияние терапии ИПП в комбинации с пробиотиком на относительное содержание основных типов бактерий

Помимо этого, наблюдались изменения бактериального состава различных семейств. Обращает на себя внимания, что на фоне комбинированного приема ИПП и пробиотика, выявлено увеличение относительного количества бактерий семейств *Bacillales*, *Camobacteriaceae*, *Bdellovibrionaceae*, *Comamonadaceae*, *Pasteurellaceae*, *Pseudomonadaceae*, и уменьшение *Mycoplasmataceae* ($p<0,05$) (рисунок 64).



Рисунок 64. Изменения относительного содержания основных семейств бактерий до и после лечения ИПП + пробиотиком

Также мы сравнили влияние кислотосупрессивной терапии в комбинации с пробиотиком на относительное содержание грамположительных и грамотрицательных бактерий в пищеводе. При этом различия между группами не достигли уровня статистической значимости (таблица 28).

Таблица 28. Сравнительная характеристика относительного содержания грамположительных и грамотрицательных бактерий в образцах пищеводной слизи у больных ГЭРБ до и после лечения ИПП в комбинации с пробиотиком

Окраска по Граму	Центильный интервал	До лечения ИПП и пробиотик	После лечения ИПП и пробиотик	p
Грамположительные	Медиана	24,65	40,32	p=0,22
	25-75	20,83-36,41	32,29-52,84	
	95	50,16	56,47	
Грамотрицательные	Медиана	81,84	62,73	p=0,34
	25-75	60,18-83,32	52,80-73,91	
	95	89,13	78,82	

Обобщенный анализ влияния ИПП и комбинации ИПП и пробиотика на микробиоту пищевода представлен в таблице 29.

Таблица 29. Влияние терапии ИПП и ИПП + пробиотик на микробиоту пищевода

Таксоны		ИПП		ИПП + пробиотик	
Тип	Семейства	Тенденция	p	Тенденция	p
Actinobacteria (Грам +)	Corynebacteriaceae	↑	p=0,04	-	-
Bacteroidetes (Грам -)	Bacteroidaceae	↑	p=0,02	-	-
	Flavobacteriaceae	↓	p=0,02	-	-
	Prevotella	↓	p=0,02	-	-
Firmicutes (Грам +)	Bacillales	-	-	↑	p=0,02
	Camobacteriaceae	-	-	↑	p=0,04
	Erysipelotrichaceae	↓	p=0,04	-	-
	Peptococcaceae 1	↓	p=0,04	-	-
Fusobacteria (Грам -)	Leptotrichiaceae	↓	p=0,04	-	-
Proteobacteria (Грам -)	Bdellovibrionaceae	↑	p=0,04	↑	p=0,02
	Caulobacteraceae	↑	p=0,02	-	-
	Comamonadaceae	-	-	↑	p=0,02
	Pasteurellaceae	-	-	↑	p=0,02
	Pseudomonadaceae	↑	p=0,04	↑	p=0,04
	Sphingomonadaceae	↑	p=0,02	-	-
Tenericutes (Грам -)	Mycoplasmataceae	-	-	↓	p=0,04

4.1.3. Влияние ингибиторов протонной помпы на микробиоту желудка

Мы также изучили влияние ИПП на микробиоту желудка у 6 пациентов с рецидивом ГЭРБ. На фоне кислотосупрессивной терапии отмечалось изменение бактериального состава желудка как на уровне типов (рисунки 65), так и на уровне семейств (рисунок 67).

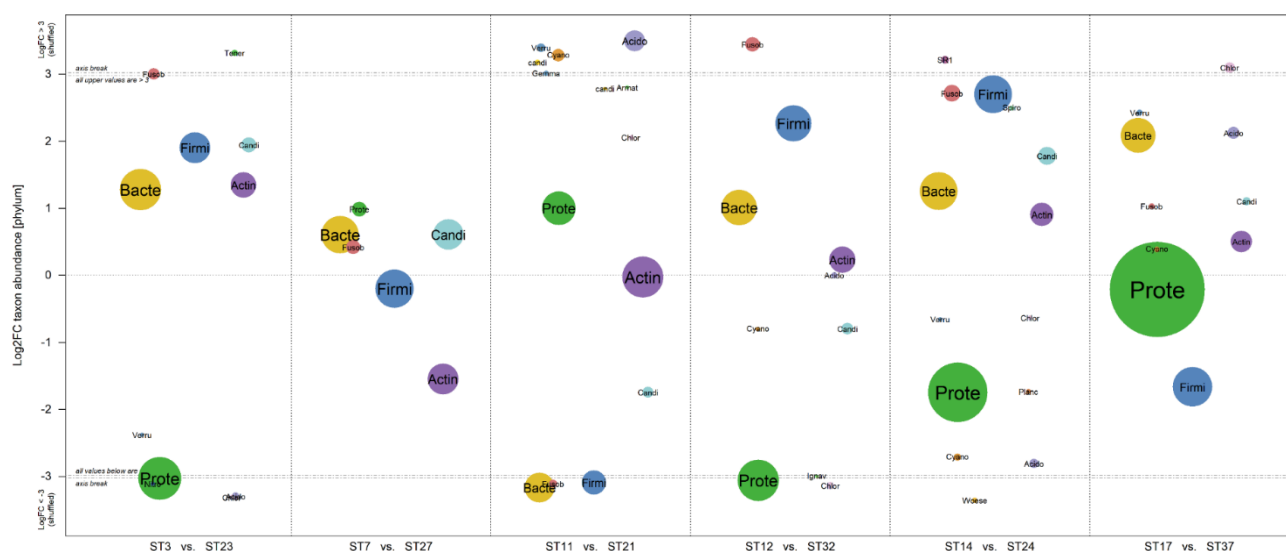


Рисунок 65. Влияние ИПП на относительное содержание основных типов бактерий в желудке

Анализ микробиоты желудка после лечения ИПП выявил снижение относительного содержания бактерий типа *Bacteroidetes*, а также тенденцию к повышению *Proteobacteria* ($p=0,03$ и $p=0,067$, соответственно) (рисунок 66).

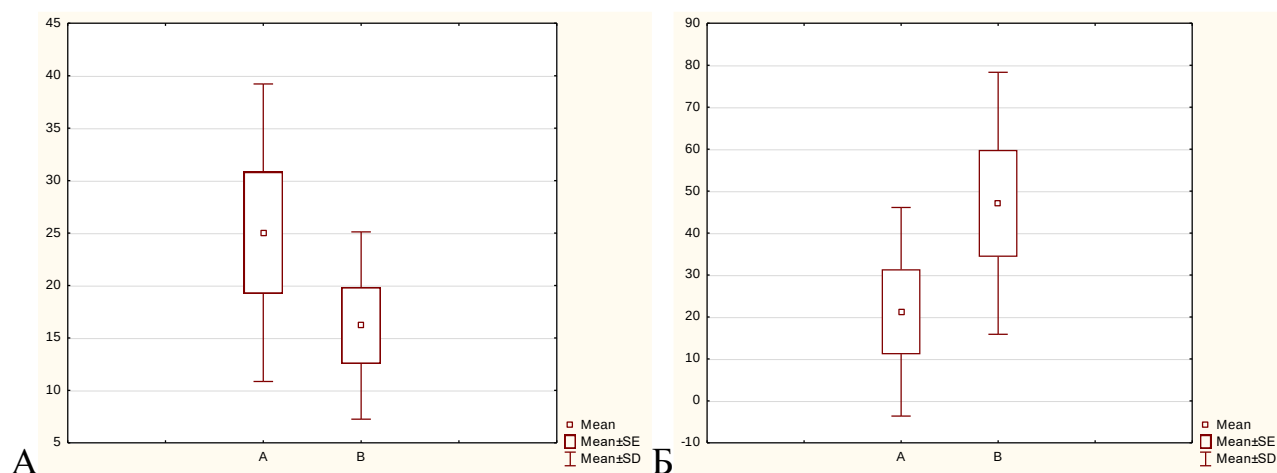


Рисунок 66. Влияние терапии ИПП на относительное содержание (%) в желудке *Bacteroidetes* (А) и *Proteobacteria* (Б)

Оценка изменения относительного содержания различных бактериальных семейств после восьминедельного лечения ИПП выявила снижение *Bacillales*, *Campylobacteraceae*, *Fusobacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Prevotellaceae*, *Pasteurellaceae*, и повышение *Enterococcaceae*, *Erysipelotrichaceae* ($p < 0,05$) (рисунок 67).

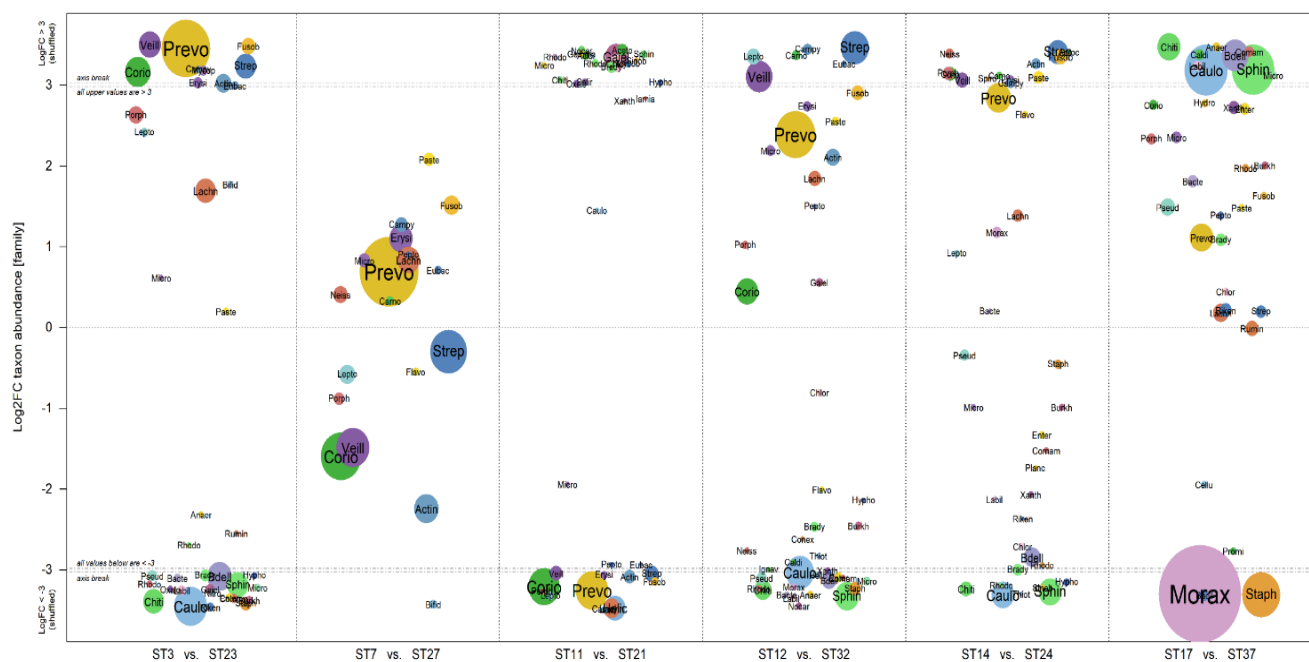


Рисунок 67. Сравнительный анализ содержания бактериальных семейств в желудке у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ до и после лечения ИПП

Наиболее наглядно изменения микробиоты желудка представлены в таблице 30.

**Таблица 30. Динамика изменений бактериального состава желудка
на фоне приема ИПП у больных с рецидивом ГЭРБ**

Типы (окраска по Граму)	Семейства	Динамика	p
Bacteroidetes (Грам-)	Prevotellaceae	↓	p=0,04
Firmicutes (Грам+)	Enterococcaceae	↑	p=0,04
	Bacillales	↓	
	Lachnospiraceae	↓	
	Erysipelotrichaceae	↑	
Fusobacteria (Грам-)	Fusobacteriaceae	↓	p=0,04
Proteobacteria (Грам-)	Pasteurellaceae	↓	p=0,04
	Campylobacteraceae	↓	

Согласно полученным данным, кислотосупрессивная терапия приводила к изменению микробиоты желудка, влияя как на грамположительные, так и на грамотрицательные бактерии. По данному признаку различия бактериального состава желудка до и после лечения не достигли уровня статистической значимости (таблица 31).

Таблица 31. Сравнительная характеристика относительного содержания грамположительных и грамотрицательных бактерий в образцах желудочного содержимого у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ до и после лечения ИПП

Окраска по Граму	Центильный интервал	До лечения ИПП	После лечения ИПП	р
Грамположительные	Медиана	29,17	17,76	0,46
	25-75	23,65-32,88	10,19-45,36	
	95	39,06	47,1	
Грамотрицательные	Медиана	65,64	75,24	0,17
	25-75	53,76-71,36	53,10-78,99	
	95	83,81	85,09	

4.1.4. Изменение микробиоты желудка при добавлении пробиотиков к терапии ингибиторами протонной помпы

При добавлении к терапии ингибиторами протонной помпы пробиотиков не было выявлено статистически значимых изменений бактериального состава микробиоты желудка на уровне типов (рисунок 68).

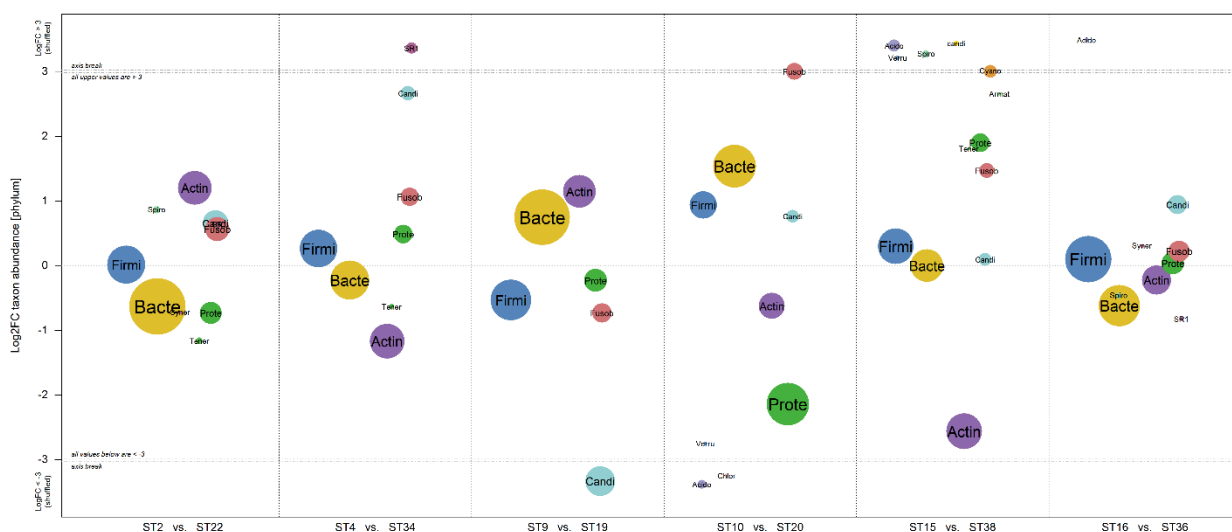


Рисунок 68. Основные типы бактерий в желудке до и после лечения ИПП в комбинации с пробиотиком

Однако при анализе изменений бактериального состава на уровне семейств было выявлено повышение *Burkholderiaceae*, *Moraxellaceae* и снижение *Enterococcaceae* и *Porphyromonadaceae* ($p=0,04$) (рисунок 69).

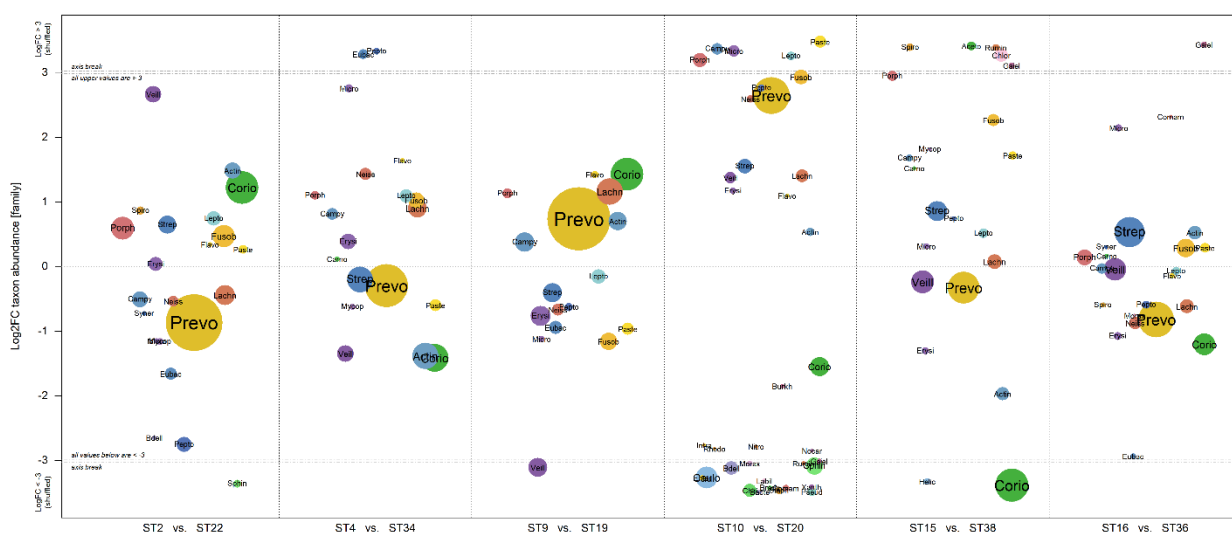


Рисунок 69. Изменения микробиоты желудка на уровне семейств на фоне лечения ИПП и пробиотика

Таким образом, влияние ИПП в комбинации с пробиотиком на микробиоту желудка представлено в таблице 32.

Таблица 32. Динамика изменений бактериального состава желудка на фоне приема ИПП + пробиотик у больных с рецидивом ГЭРБ

Типы (окраска по Граму)	Семейства	Динамика	p
Bacteroidetes (Грам-)	Porphyromonadaceae	↓	p=0,04
Firmicutes (Грам+)	Enterococcaceae	↓	p=0,04
Proteobacteria (Грам-)	Burkholderiaceae	↑	p=0,04
	Moraxellaceae	↑	

Анализ относительного содержания грамположительных и грамотрицательных бактерий до и после лечения не выявил статистически значимой разницы (таблица 33).

Таблица 33. Сравнительная характеристика относительного содержания грамположительных и грамотрицательных бактерий в образцах желудочного содержимого у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ до и после лечения ИПП в комбинации с пробиотиком

Окраска по Граму	Центильный интервал	До лечения ИПП и пробиотик	После лечения ИПП и пробиотик	p
Грамположительные	Медиана	32,17	36,68	p=0,34
	25-75	24,32-36,25	22,64-50,79	
	95	36,76	66,34	
Грамотрицательные	Медиана	70,05	64,42	p=0,6
	25-75	57,35-81,32	57,60-69,81	
	95	83,06	88,19	

Клинические наблюдения

Клиническое наблюдение 1.

Пациент М., 32 лет обратился в клинику пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко с жалобами на ежедневную изжогу, горечь во рту.

Из анамнеза заболевания известно, что пациент считает себя больным в течение 7 лет, когда впервые стал отмечать появление изжоги. При обследовании по месту жительства по данным ЭГДС выявлен катаральный рефлюкс - эзофагит, антральный гастрит. Проведено лечение ИПП и антацидами с положительным эффектом. Однако спустя 3 года при погрешностях в диете стала вновь появляться изжога. Пациент самостоятельно принимал ИПП и антациды с кратковременным положительным эффектом. Год назад стал отмечать появление горечи во рту по утрам, усиление интенсивности и увеличение частоты изжоги. Продолжал по требованию принимать те же препараты. Два месяца назад изжога стала возникать ежедневно, продолжала беспокоить горечь во рту, а прием ИПП и обволакивающих препаратов не всегда купировал данные симптомы. Учитывая рецидивирующий характер жалоб, а также отсутствие полного клинического эффекта от проводимого лечения, пациент обратился в клинику.

При объективном осмотре: состояние пациента относительно удовлетворительное. Рост 173 см, вес 91 кг. ИМТ=30,7 кг/м². Кожные покровы обычной окраски. Над легкими везикулярное дыхание, хрипы не выслушиваются. ЧДД 17 в минуту. Тоны сердца ясные, ритм правильный. ЧСС=PS=68 ударов в минуту. АД 110 и 70 мм рт. ст. Язык обложен желтым налётом. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень не выступает из под края реберной дуги. Кишечная перистальтика выслушивается. Селезенка не пальпируется. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Отеков нет.

В клиническом и биохимическом анализах крови, анализе мочи и кала отклонений выявлено не было.

По данным УЗИ органов брюшной полости: УЗ – признаки деформации желчного пузыря, холестероза стенок желчного пузыря, небольшого количества аморфного осадка в желчном пузыре.

По данным ЭГДС: пищевод свободно проходим, стенки его эластичные, слизистая гиперемирована в нижней трети, там же видны две красные эрозии продольной формы до 0,7 см. Кардия смыкается неполностью. В желудке большое количество желчи. Складки слизистой невысокие ровные, слизистая желудка неравномерно гиперемирована в антральном отделе. Привратник проходим. Луковица двенадцатиперстной кишки бледно - розовая. Постбульбарный отдел проходим.

По данным морфологического исследования: неориентированные фрагменты многослойного плоского эпителия без подлежащей ткани. Единичные мононуклеарные элементы в эпителии. Полнокровие сосудов слизистой оболочки. Расширение межклеточных пространств (рисунок 70).
Заключение: хронический эзофагит, неактивный.

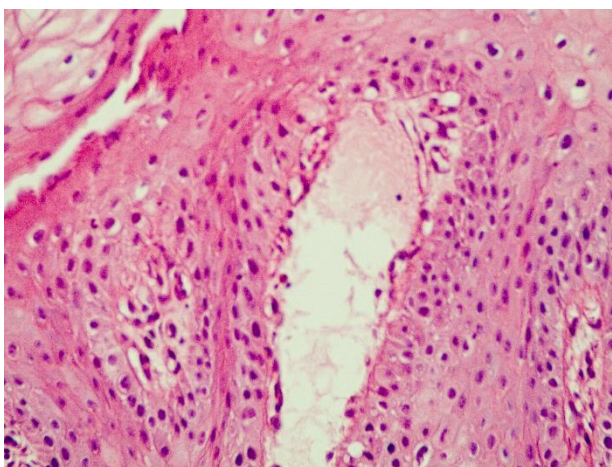


Рисунок 70. Полнокровие сосуда собственной пластинки, воспалительная инфильтрация собственной пластинки х400

По данным манометрии пищевода высокого разрешения: давление покоя ВПС в норме, раскрытие в ответ на влажный глоток в пределах нормальных значений. Давление покоя НПС на верхних границах физиологической нормы, раскрытие в ответ на влажный глоток в норме.

Сокращения в грудном отделе пищевода перистальтические с нормальной интенсивностью в дистальном отделе (рисунок 71).

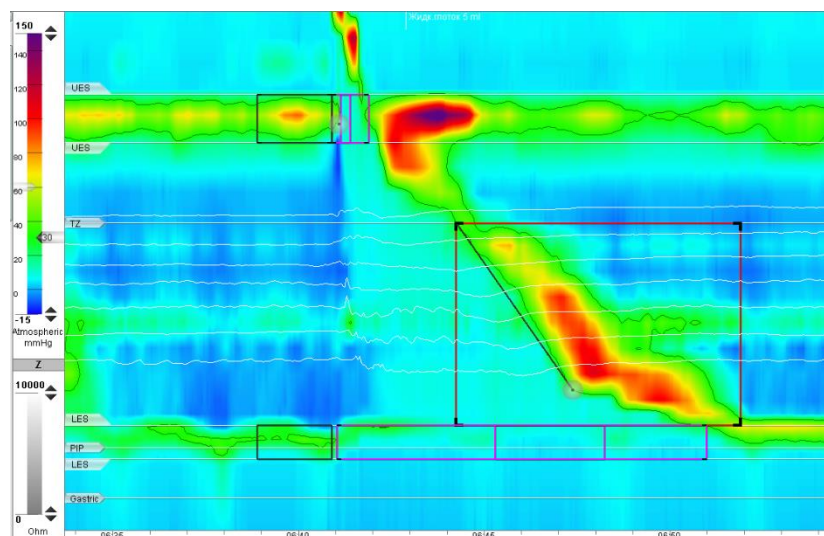


Рисунок 71. Манометрия пищевода пациента М.

24- часовая рН – импедансометрия: по данным рН - метрии пищевода в дневное время регистрируется значительное количество кислых рефлюксов (54), связанных и не связанных с приемом пищи (рисунок 72). Общее время с $\text{pH} < 4$ в норме – 3,6% времени исследования. Ночью рефлюксов нет. Индекс DeMeester на верхней границе нормы. По данным импедансометрии 24 жидких рефлюкса: 6 кислых и 18 слабокислых; 82 смешанных рефлюкса, из них 48 кислых, 34 слабокислых. На высоте 17 см над краем НПС зарегистрирован 31 рефлюкс. При проведении рН - метрии желудка регистрируется нормацидность. Признаки частых кратковременных ДГР в дневное и ночное время.

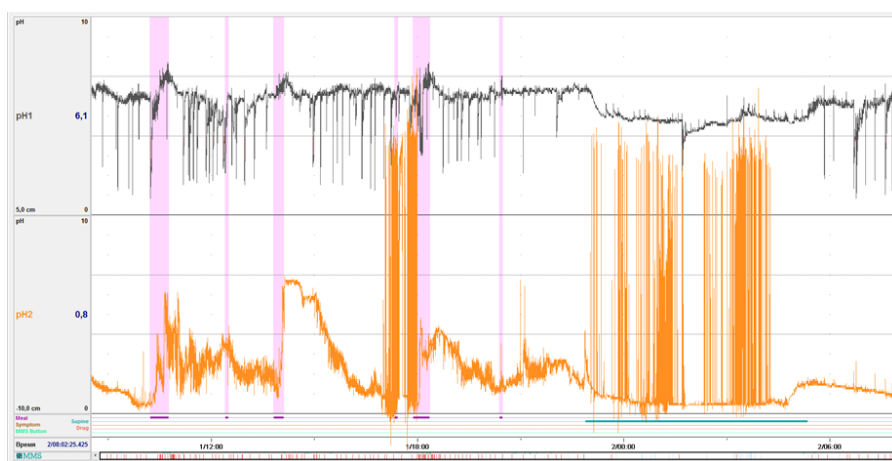


Рисунок 72. График рН- метрии пациента М.

На основании жалоб, анамнеза заболевания, данных объективного осмотра, а также результатов обследования был выставлен диагноз: ГЭРБ: эрозивный рефлюкс- эзофагит степени А по Лос - Анджелесской классификации. Антральный гастрит. Деформация желчного пузыря. Холестероз желчного пузыря. Билиарный сладж.

При выборе медикаментозной терапии учитывалось рецидивирование клинических проявлений ГЭРБ, наличие эрозивного эзофагита по данным ЭГДС, а также большое количество слабокислых рефлюксов и ДГР по данным 24- часовой рН- импедансометрии. Кроме того, у пациента по данным УЗИ ОБП были признаки билиарного сладжа и холестероза желчного пузыря. Таким образом, была назначена комплексная терапия, включающая в себя курс ИПП, обволакивающие препараты и урсодезоксихолевую кислоту. Учитывая высокий ИМТ, пациенту была рекомендована нормализация массы тела.

На фоне проводимого лечения отмечена положительная клиническая и эндоскопическая динамика.

Спустя полгода пациент был приглашен для исследования микробиоты пищевода и желудка методом секвенирования 16S рРНК. Возникновение изжоги пациент отмечал только при погрешностях в диете. По данным ЭГДС - катаральный рефлюкс – эзофагит. Мы провели забор пищеводной слизи и желудочного содержимого (рисунки 73, 74). После чего больному был рекомендован прием рабепразола 20 мг в день в течение 2 месяцев, с последующей оценкой микробиоты.

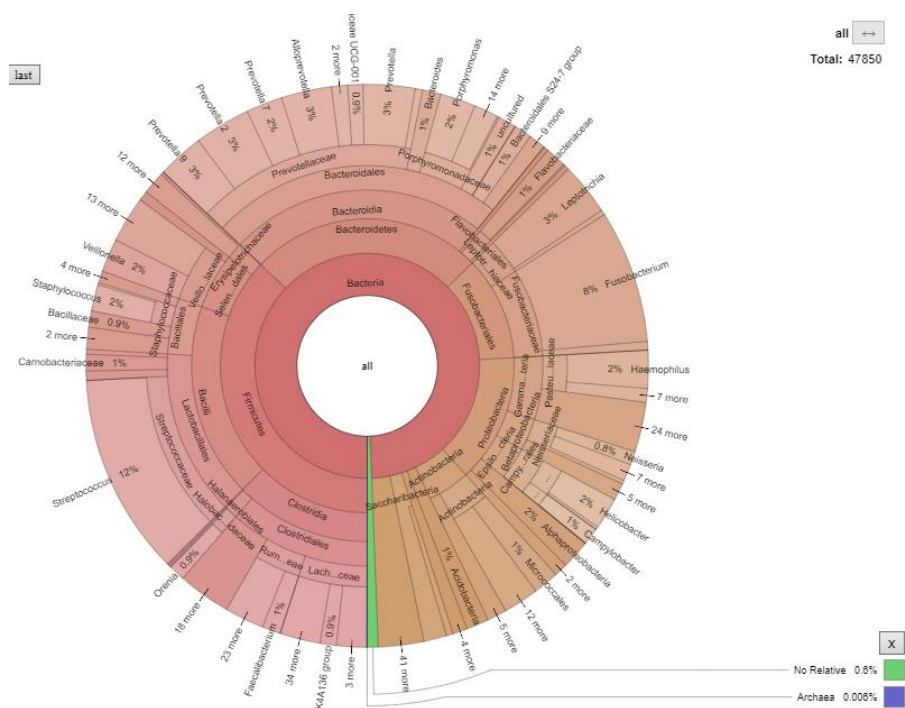


Рисунок 73. Микробиота пищевода по данным секвенирования 16S рРНК до лечения

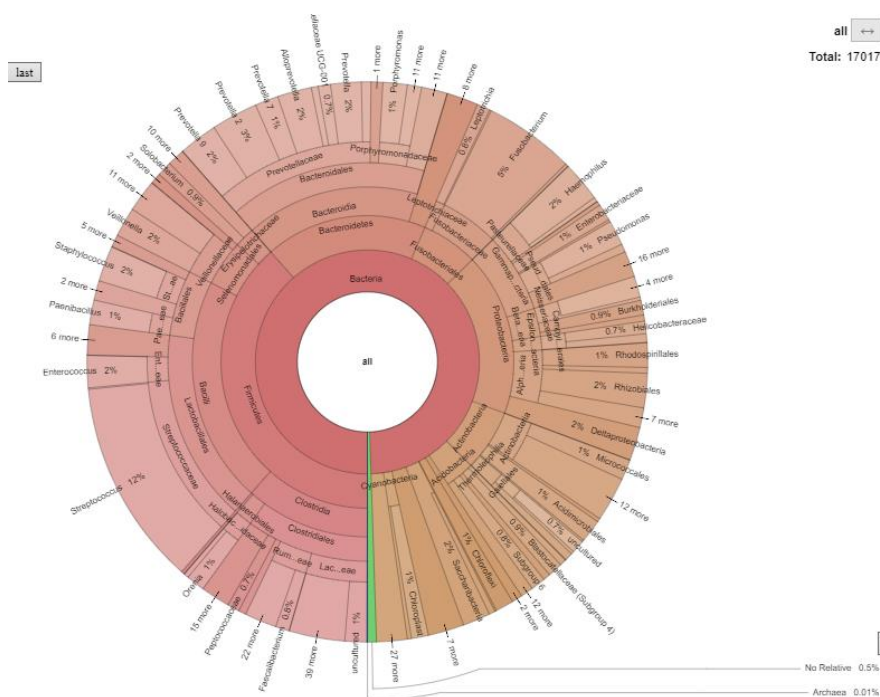


Рисунок 74. Микробиота желудка по данным секвенирования 16S рРНК до лечения

При анализе микробиоты пищевода наблюдались изменения в содержании основных бактериальных типов до и после лечения соответственно: *Actinobacteria* (7,72% → 7,15%), *Bacteroidetes* (28,93% →

16,75%), *Candidatus Saccharibacteria* (7,58% → 3,1%), *Firmicutes* (27,14% → 9,15%), *Fusobacteria* (9,91% → 0,32%), *Proteobacteria* (16,17% → 53,92%).

Микробиота желудка до и после лечения ИПП также отличалась: *Actinobacteria* (9,44% → 32,65%), *Bacteroidetes* (34,44% → 30,83%), *Candidatus Saccharibacteria* (4,86% → 1,04%), *Firmicutes* (35,93% → 24,25%), *Fusobacteria* (8,97% → 4,07%), *Proteobacteria* (6,55% → 5,56%).

Клиническое наблюдение 2.

Пациент П., 54 лет обратился в клинику пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко с жалобами на ежедневную изжогу, отрыжку воздухом, вздутие живота. Из анамнеза заболевания известно, что изжога возникла в возрасте 18 лет и купировалась приемом пищевой соды и антацидами. В клинике пациент наблюдается с 2002 года, когда впервые при проведении ЭГДС был выявлен эрозивный рефлюкс-эзофагит. Проведено лечение ИПП, обволакивающими с положительным клиническим и эндоскопическим эффектом. Однако после отмены препаратов у пациента вновь возникала изжога, а по данным ЭГДС выявлялись эрозии в пищеводе. Учитывая часторецидивирующее течение ГЭРБ, появление отрыжки воздухом, вздутия живота, пациент вновь был госпитализирован в клинику.

При объективном осмотре: состояние пациента относительно удовлетворительное. Рост 178 см, вес 79 кг. ИМТ=24,9 кг/м². Кожные покровы обычной окраски. Над легкими везикулярное дыхание, хрипы не выслушиваются. ЧДД 17 в минуту. Тоны сердца ясные, ритмичные. ЧСС=PS=64 удара в минуту. АД 130 и 80 мм рт. ст. Язык обложен белым налётом. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень не выступает из под края реберной дуги. Кишечная перистальтика выслушивается. Селезенка не пальпируется. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Отеков нет.

В клиническом и биохимическом анализах крови, анализе мочи и кала отклонений выявлено не было.

По данным УЗИ органов брюшной полости: УЗ - признаки умеренных диффузных изменений ткани печени, деформации желчного пузыря, диффузных изменений ткани поджелудочной железы.

По данным ЭГДС: пищевод свободно проходим, стенки его эластичные, слизистая гиперемирована в нижней трети, видны следы заэпителизированных эрозий. Кардия смыкается неполностью. Складки слизистой невысокие ровные, слизистая желудка неравномерно гиперемирована в антральном отделе. Привратник проходим. Луковица двенадцатиперстной кишки бледно - розовая. Постбульбарный отдел проходим.

По данным морфологического исследования: неориентированные фрагменты многослойного плоского эпителия без подлежащей ткани. Единичные мононуклеарные элементы в эпителии. Полнокровие сосудов слизистой оболочки (рисунок 75). Заключение: хронический эзофагит, неактивный.

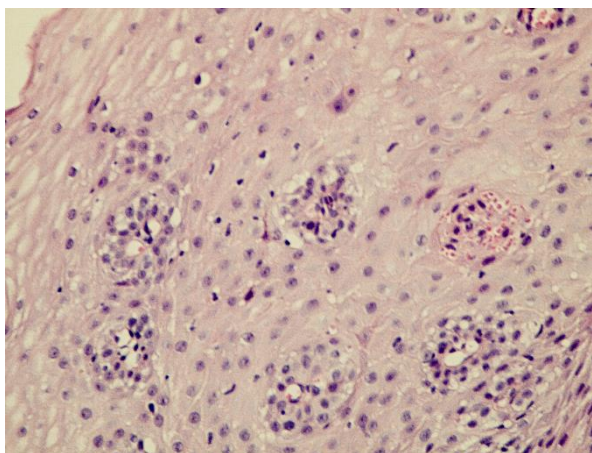


Рисунок 75. Мононуклеарные элементы в эпителии базального слоя, x400

По данным манометрии пищевода высокого разрешения: давление покоя ВПС в норме, раскрытие в ответ на влажный глоток в пределах нормальных значений. Давление покоя НПС снижено, раскрытие в ответ на влажный глоток в норме. Сокращения в грудном отделе пищевода перистальтические со сниженной интенсивностью в дистальном отделе (рисунок 76).

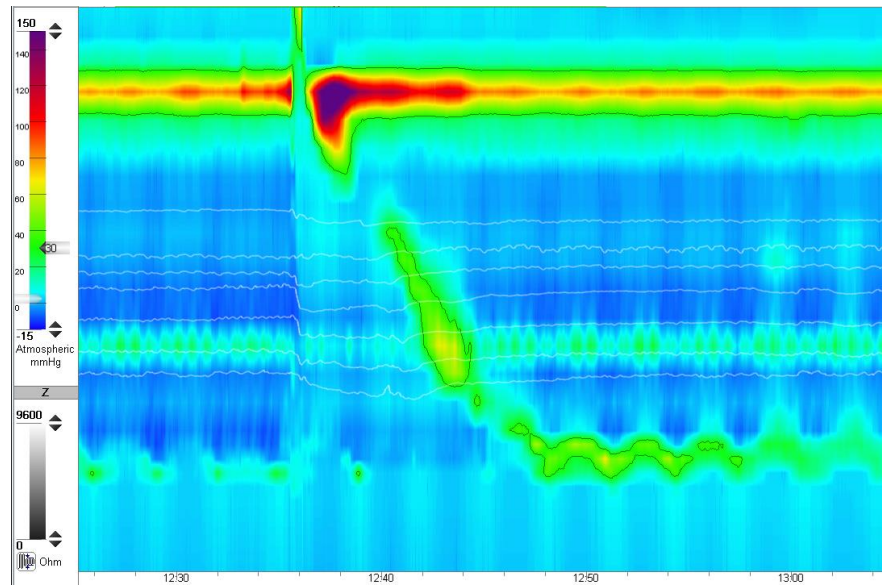


Рисунок 76. Манометрия пищевода пациента П.

По данным 24- часовой рН – импедансометрии: при анализе данных рН- метрии пищевода в дневное время регистрируются многочисленные патологические кислые рефлюксы и ре-рефлюксы (163), связанные и не связанные с приемом пищи (рисунок 77). Зафиксировано 32 рефлюкса продолжительностью более 5 минут (максимально до 68 минут). Общее время с $\text{pH} < 4$ повышено – 57% времени исследования. Ночью регистрируются продолжительные патологические кислые рефлюксы, время закисления составляет более 5 часов. Признаки выраженного замедления пищеводного клиренса. Индекс DeMeester значительно повышен. По данным импедансометрии диагностировано 7 жидких рефлюксов: 6 кислых и 1 слабокислый; 18 смешанных рефлюксов. Дистальный Z- датчик длительное время находился в жидкой среде (замедление объемного пищеводного клиренса). На высоте 17 см над краем НПС зарегистрирован 13 рефлюкс, то есть всего 52% от общего числа рефлюксов. При проведении рН - метрии желудка отмечается тенденция к гиперацидности ($\text{pH} < 2$ составляет 74% времени исследования). Буферное действие пищи в норме.

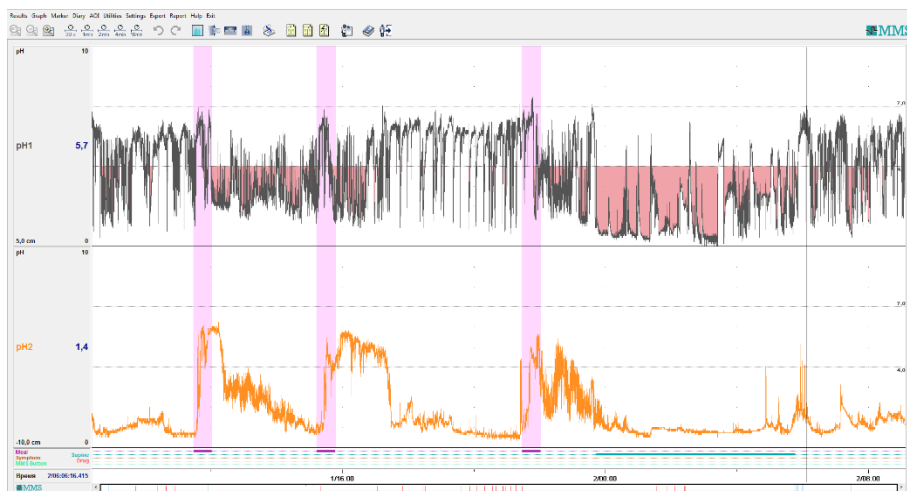


Рисунок 77. График рН- метрии пациента П.

На основании жалоб, анамнеза заболевания, данных объективного осмотра, а также результатов обследования был выставлен диагноз: ГЭРБ: эрозивный рефлюкс- эзофагит в стадии эпителизации эрозий. Неэффективная моторика пищевода. Антральный гастрит.

После подписания информированного согласия, пациенту был выполнен забор пищеводной слизи и желудочного содержимого для изучения микробиоты до и после лечения. Учитывая жалобы пациента на вздутие живота, к терапии помимо ИПП был добавлен комбинированный пробиотик (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus rhamnosus*).

По данным секвенирования 16S рРНК образцов пищеводного содержимого до и после лечения ИПП в комбинации с пробиотиком были выявлены следующие изменения: *Actinobacteria* (19,44% → 12,6%), *Bacteroidetes* (21,47% → 37,48%), *Candidatus Saccharibacteria* (7,44% → 4,43%), *Firmicutes* (40,23% → 28,72%), *Fusobacteria* (5,43% → 9,08%), *Proteobacteria* (3,44% → 8,49%).

Анализ микробиоты желудка до и после лечения также выявил изменения бактериального состава: *Actinobacteria* (12,44% → 32,65%), *Bacteroidetes* (22,14% → 30,83%), *Candidatus Saccharibacteria* (7,98% → 1,04%), *Firmicutes*

(37,32% → 24,25%), *Fusobacteria* (7,74% → 4,07%), *Proteobacteria* (8,34% → 5,56%).

Учитывая выявление у пациента по данным манометрии пищевода высокого разрешения неэффективной моторики, к терапии были добавлены прокинетики (итоприда гидрохлорид) с целью воздействия на патогенетические звенья ГЭРБ и нормализации моторики верхних отделов ЖКТ. На фоне лечения отмечается положительная клиническая динамика: изжога, отрыжка воздухом и вздутие живота пациента не беспокоят.

Оба пациента продолжают наблюдаться в клинике пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко.

Представленные клинические наблюдения демонстрируют важность комплексного обследования больных с применением ЭГДС с биопсией слизистой оболочки пищевода, манометрии пищевода, 24- часовой рН-импедансометрии, позволяющих выявить индивидуальные функциональные особенности у больных для более индивидуализированного подхода к лечению. В первом клиническом наблюдении это множественные слабокислые рефлюксы, частые ДГР в желудок, а также осадок в желчном пузыре, которые потребовали добавления к терапии препаратов УДХК. Во втором – неэффективная моторика пищевода, которая обуславливает рецидивирование заболевания и патогенетически обоснованным в данном случае является назначение прокинетиков.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В многочисленных эпидемиологических исследованиях отмечается неуклонный рост распространенности гастроэзофагеальной рефлюксной болезни [31, 127]. Актуальность заболевания обусловлена не только значительным ухудшением самочувствия пациентов, снижением качества жизни, риском развития грозных осложнений, но и довольно высоким риском рецидивирования клинических и эндоскопических проявлений ГЭРБ после проведенного лечения [131]. У 60-70% пациентов в течение первых трех месяцев после прекращения приема лекарственных препаратов наблюдается рецидив заболевания [15]. Изучение особенностей больных при рецидивировании ГЭРБ имеет важное практическое значение.

Цель и задачи нашего исследования позволили нам комплексно оценить функциональные показатели, клинические и морфологические особенности у больных с рецидивом клинических проявлений заболевания после проведенного лечения и у пациентов с впервые выявленной ГЭРБ.

В диссертационную работу было включено 37 пациентов с рецидивом ГЭРБ, которые составили основную группу, и в группу контроля 28 пациентов с впервые выявленной ГЭРБ. Группы были рандомизированы по полу и возрасту.

Следует отметить, что ИМТ был выше у больных с рецидивом ГЭРБ, из чего следует, что избыточная масса тела увеличивает риск рецидивирования заболевания после проведенного лечения. Проведенный нами литературный обзор также показал, что высокий ИМТ является фактором риска рецидива ГЭРБ [5]. В таком случае нормализация массы тела должна быть рекомендована всем больным с ГЭРБ.

Особенности клинической картины заболевания были оценены после тщательного анализа опросников, заполняемых пациентами (приложение 2). Основным симптомом, который послужил поводом для обращения в клинику, была изжога. Причем у больных с рецидивирующим течением ГЭРБ она возникала чаще и была более интенсивной, мешающей в повседневной жизни

($p=0,019$, $\chi^2=4,97$ и $p=0,026$, $\chi^2=4,86$). Ночная изжога чаще встречалась у исследуемых основной группы ($p=0,04$). Стоит также отметить, что для купирования данного симптома пациентам с рецидивом ГЭРБ необходимо было принимать обволакивающие препараты и/или ИПП, в то время как у 42% больных контрольной группы изжога купировалась самостоятельно.

Такие симптомы, как горечь во рту, вздутие живота и тяжесть в эпигастральной области также чаще встречались у пациентов основной группы ($p=0,033$, $\chi^2=4,75$, $p=0,012$, $\chi^2=4,89$ и $p=0,037$, $\chi^2=4,79$, соответственно). Работ, посвященных особенностям клинической картины у больных с рецидивом ГЭРБ очень мало. Исследование, проведенное YW. Min соавт. и включавшее 824 пациента с ГЭРБ, продемонстрировало, что наиболее частые рецидивы заболевания после проведенного лечения возникали у больных с жалобами на кислую регургитацию или при сочетании регургитации с изжогой по сравнению с теми, кто жаловался только на изжогу (31,1%, 43,3% и 25,6%, соответственно) [100]. Кроме того, авторами было отмечено, что у пациентов, у которых удалось достигнуть заживления слизистой оболочки пищевода и купирования клинических проявлений в течение 4 недель, рецидив заболевания встречался реже по сравнению с теми, кому для достижения положительной клиничко - эндоскопической динамики понадобилось 8 недель.

Всем пациентам, включенным в исследование, была проведена ЭГДС, которая не выявила между двумя группами различий в форме ГЭРБ ($p=0,16$). Согласно Лос – Анджелесской классификации у преобладающего большинства пациентов основной и контрольной группа была диагностирована I степень тяжести рефлюкс- эзофагита, в то время как эзофагит 3 и 4 степени встречался у 3,2 % исследуемых основной группы и не выявлялся в контрольной группе. Статистически значимых различий не было выявлено при сравнении количества пациентов со 2 степенью активности рефлюкс - эзофагита (16,2 % - с рецидивом заболевания, у 8,3% - с впервые выявленной ГЭРБ).

При проведении ЭГДС обращает на себя внимание более частое обнаружение у больных контрольной группы эрозивного гастрита ($p=0,011$).

Подобная находка может быть объяснена H. pylori – статусом пациентов, определение которого не являлось целью нашего исследования. Кроме того, необходимо принимать во внимание, что в контрольную группу вошли лица, которые ранее не получали кислотосупрессивную терапию, в то время как пациенты основной группы зачастую принимали ИПП в режиме по требованию.

Гистологическое исследование биоптатов слизистой оболочки пищевода продемонстрировало в той или иной степени выраженные воспалительные, дистрофические изменения. Лимфоцитарная и нейтрофильная инфильтрация встречались с одинаковой частотой в контрольной и основной группе, что свидетельствует об отсутствии различий между группами по степени активности рефлюкс - эзофагита. Однако мононуклеарные элементы, как основной признак хронического воспаления, чаще выявлялись у пациентов с рецидивом ГЭРБ ($p=0,003$). Некоторые исследования, посвященные корреляции выраженности гистологических проявлений и интенсивности клинических проявлений, тяжести течения заболевания, показателей 24- часовой рН – метрии, не выявили положительной связи [61, 115]. Однако в данных работах не был проведен сравнительный анализ гистологической картины слизистой оболочки пищевода при его рецидивировании.

Отличительной особенностью гистологической картины рефлюкс-эзофагита при его рецидивировании является более частое выявление акантоза и удлинения соединительнотканых сосочков ($p=0,01$), которое обусловлено выделением фактора роста фибробластов и эпидермального фактора роста макрофагами. Эти изменения отражают высокую пролиферативную активность воспаления в пищеводе у лиц с рецидивом заболевания.

Кроме того, у пациентов с впервые выявленной ГЭРБ отмечено более частое выявление в биоптатах слизистой оболочки пищевода койлоцитоза, который характерен для вируса папилломы человека. Так как в нашей работе мы не определяли наличие у пациентов *Papillomavirus*, который является

основной причиной подобных гистологических «находок», интерпретация данной гистологической особенности рефлюкс-эзофагита затруднительна.

Выявление описанных в нашей работе особенностей гистологической картины пищевода у пациентов с рецидивом ГЭРБ наиболее вероятно отражает превышение повреждающего потенциала над возможностью защитных механизмов.

Заслуживают внимания функциональные параметры, изученные с помощью манометрии пищевода высокого разрешения и 24-часовой рН-импедансометрии, которые мы оценивали у всех пациентов, включенных в исследование.

Манометрия высокого разрешения позволила исследовать сократительную активность пищевода, скоординированность его перистальтики с функционированием НПС и ВПС. Согласно полученным данным, давление покоя ВПС и НПС не отличалось между группами, и было в пределах нормальных значений у подавляющего большинства исследуемых. Также не было различий в суммарном давлении расслабления НПС и времени сокращения проксимального сегмента (DL) грудного отдела пищевода, показатели которых находились в пределах референсных значений.

Протяженность разрыва сокращения (участок сокращения стенки пищевода с давлением менее 20 мм рт. ст., который считается «выпавшим» из сокращения) была выше у больных с рецидивом заболевания по сравнению с лицами с впервые выявленной ГЭРБ (2,1 см и 0,86 см соответственно). Мы обращаем внимание на данный показатель, так как согласно некоторым исследованиям он может коррелировать с неполным транзитом болюса [77, 99, 108] и с замедлением пищеводного клиренса [94].

Также было выявлено снижение интенсивности сокращения дистального сегмента пищевода у большего числа пациентов основной группы по сравнению с контрольной (45,2% и 16,7% соответственно, $p=0,02$, $\chi^2=4,98$). Это свидетельствует о том, что снижение интенсивности сокращения дистального сегмента пищевода увеличивает 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 пищеводного клиренса и увеличению времени экспозиции рефлюктата в пищеводе.

Интересным представляется корреляционный анализ между интенсивностью сокращения дистального сегмента и протяженностью разрыва сокращения, который выявил отрицательную связь ($r=-0,53$, $p=0,0001$). Исследование данного параметра и его связи с перистальтикой пищевода, а также пищеводным клиренсом является весьма актуальным. Одной из работ, посвященных данной проблеме, является исследование, проведенное Y. Li и соавт, которое выявило связь дефекта переходной зоны с замедлением транзита болюса в проксимальном отделе пищевода [94].

Также у пациентов контрольной 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).

Таким образом, проанализировав характеристики сокращения дистального сегмента пищевода, следует отметить, что у большего числа больных с рецидивом ГЭРБ обращает на себя внимание снижение перистальтики в дистальном отделе пищевода ($p=0,05$). Также нельзя не отметить, что у 13% пациентов основной группы выявлено отсутствие перистальтики грудного отдела пищевода, в то время как подобные нарушения не встречались в контрольной группе ($p=0,07$).

Кроме того, манометрия пищевода позволяет с довольно высокой точностью определять ГПОД и ее размеры. Анализ показал, что ГПОД не выявлялась у пациентов с впервые выявленной ГЭРБ, в то время как она встречалась у 18,9% больных с рецидивом заболевания ($P=0,03$, ОШ 1,24 ДИ 1,044-1,47). Таким образом, в нашей работе подтвердились результаты ранее проведенных исследований, свидетельствующих о том, что ГПОД является фактором риска рецидива ГЭРБ [5].

В настоящее время в литературе нет работ, посвященных влиянию изменений двигательной функции пищевода на рецидивирование ГЭРБ, что в очередной раз демонстрирует актуальность проведенного нами исследования.

Особого внимания заслуживают результаты, полученные при проведении 24 - часовой рН- импедансометрии пищевода. Во - первых, по данным суточной рН - метрии у пациентов основной группы наблюдался гораздо более высокий индекс DeMeester, учитывающий экспозицию кислоты в пищеводе в течение всего времени исследования при горизонтальном и вертикальном положении тела ($p=0,00001$). По нашему мнению, это объясняется нарушениями перистальтики пищевода, которые в данной работе чаще встречались у больных с рецидивом ГЭРБ.

Во - вторых, у пациентов основной группы % времени с $pH < 4$ в пищеводе был больше по сравнению с контрольной, что также может быть объяснено нарушением перистальтической активности пищевода ($p=0,04$). Данный показатель характеризует воздействие рефлюкса на слизистую оболочку и считается патологическим, если превышает 6%. У исследуемых основной группы он составил 7,6%, контрольной группы – 4,3%.

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 ($p=0,0027$).

Следует отметить, что работы, посвященные изучению показателей рН-импедансометрии у больных с рецидивом заболевания, по сравнению с лицами с впервые выявленной ГЭРБ, в литературе не встречаются. В нашем исследовании также впервые было проанализировано распределение рефлюксов по уровню рН, а также по составу (жидкие, газовые и смешанные). Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии различий между группами по данным признакам. Таким образом, можно сделать заключение о том, что физико – химические свойства рефлюктата не влияют на

рецидивирование ГЭРБ. Очевидно, рН и состав рефлюктата, а именно преобладание слабокислых и смешанных рефлюксов, играют роль только у пациентов с недостаточным ответом на ИПП, что было продемонстрировано ранее в нескольких исследованиях [8, 112, 117].

При помощи рН – импедансометрии мы проанализировали время нахождения кислого рефлюктата в пищеводе (экспозицию кислого болюса) на высоте 5 см над краем НПС в различных положениях тела. У больных с рецидивом заболевания этот показатель (общий и в положении стоя) был в два раза выше по сравнению с пациентами с впервые выявленной ГЭРБ ($p=0,04$). Более длительную экспозицию кислого болюса в пищеводе у пациентов основной группы можно объяснить выявленными двигательными нарушениями: снижением перистальтики с дистальном отделе, более высокой частотой отсутствия перистальтических волн (интактных сокращений). На высоте 15 см над краем НПС у больных с рецидивом заболевания также отмечалось двукратное удлинение времени нахождения рефлюктата в пищеводе (общее – $p=0,04$, стоя – $p=0,03$). Однако общее время экспозиции болюса (за исключением газовых рефлюксов) не отличалось между группами.

Анализ показателей 24- часовой рН- импедансометрии выявил, что у больных контрольной группы отмечается замедление химического клиренса в горизонтальном положении по сравнению с пациентами основной группы ($p=0,001$). Как известно, химический клиренс зависит от слюнообразования, которое, по мнению некоторых авторов снижено у больных с ГЭРБ [75, 87]. Известно, что в ночное время процесс образования слюны снижается, что значительно уменьшает нейтрализацию рефлюктата, а также первичную перистальтику. Несмотря на то, что в задачи нашего исследования не входило проведение сцинтиграфии слюнных желез для оценки синтеза слюны, мы предполагаем, что причиной снижения химического клиренса может являться именно снижение слюнообразования.

Анализ показателей кислотности желудка в дневное и ночное время, а также после еды, измеренных с помощью 24- часовой рН- метрии, не выявил

различий в уровнях pH в основной и контрольной группах. Это позволяет сделать вывод о том, что внутрижелудочный pH не влияет на рецидивирование ГЭРБ.

Помимо изучения клинических, морфологических и функциональных особенностей у больных с ГЭРБ, мы также изучили микробиоту пищевода и желудка. Следует отметить, что подобное исследование было проведено впервые в Российской Федерации, а литературный обзор зарубежных статей продемонстрировал небольшое количество оригинальных исследований, посвященных данному вопросу. Еще меньше работ, описывающих влияние ИПП на бактериальный состав пищевода и желудка, и нам не встретилось ни одного исследования, в котором было бы описано влияние применения пробиотиков.

В пищеводе так же, как и в желудке выделяется пристеночная и полостная микробиота, которая оказывает влияние на организм человека посредством различных механизмов и может отличаться по качественному и количественному составу. Однако, в настоящее время в литературе нам не встретилась ни одна работа, которая бы проводила подобное сравнение. Мы считаем этот аспект немаловажным и учитываем при сравнении полученных нами данных с результатами проведенных ранее исследований.

Целью нашей работы было изучить просветную (полостную) микробиоту пищевода и желудка у больных с ГЭРБ и здоровых добровольцев с использованием метода секвенирования 16S рРНК. Анализ микробиоты осуществлялся в образцах пищеводной слизи и желудочного содержимого, полученных с помощью специально спроектированного и запатентованного нами зонда (Патент № 179203).

В нашей работе мы выявили с одной стороны идентичный качественный (типы, семейства) бактериальный состав микробиоты пищевода, желудка у больных с ГЭРБ и здоровых добровольцев. С другой стороны, нами были отмечены количественные различия в относительном содержании различных

семейств и типов бактерий между больными и здоровыми, а также до и после лечения.

Согласно полученным данным, в пищеводе в преобладающем большинстве обнаруживались грамотрицательные бактерии типов *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacterium*, и грамположительные типов *Firmicutes* и *Actinobacteria*. Наши данные подтверждают результаты исследования, проведенного в Японии N. Liu и соавт, которые изучили микробиоту пищевода у здоровых лиц с нормальной эндоскопической картиной пищевода, больных с ГЭРБ и пищеводом Баррета (таблица 2) [95]. Авторами была оценена пристеночная микробиота, так как секвенирование 16S рРНК производилось с использованием в качестве материала биоптатов слизистой оболочки пищевода. Наиболее распространенными типами бактерий в пищеводе как у здоровых, так и у больных с ГЭРБ и пищеводом Баррета были *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*. В исследовании, проведенном I. Amir и соавт. также было продемонстрировано, что бактерии типов *Proteobacteria* и *Firmicutes* являются наиболее распространенными представителями пристеночной микробиоты пищевода [52]. Еще одно исследование микробиоты, выполненное Z. Pei и соавт. также показало преобладание *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и TM7 [109].

Таким образом, при сравнении наших данных с результатами ранее проведенных исследований отмечается одинаковый качественный, но отличный количественный состав микробиоты пищевода как у здоровых, так и у больных с ГЭРБ. Выявленные отличия можно объяснить, во-первых, различием популяции респондентов. Во-вторых, влиянием различных методик анализа таксономического состава и используемых материалов для анализа: при оценке полостной микробиоты – пищеводная слизь, пристеночной – биоптаты слизистой оболочки пищевода [144]. Имеющиеся в настоящее время данные о составе микробиоты пищевода представлены в таблице 35.

Таблица 34. Современное представление о составе микробиоты пищевода у больных, страдающих ГЭРБ, и здоровых добровольцев по данным различных авторов [36]

	Z. Pei и соавт. (2004) [109]	N. Liu и соавт. (2013) [95]	Д.Е. Румянцева и соавт. (2018) [36]
Материал для исследования	Биоптаты слизистой оболочки пищевода	Биоптаты слизистой оболочки пищевода	Образцы пищеводной слизи
Здоровые добровольцы		<i>Actinobacteria</i> (3%) <i>Bacteroidetes</i> (8%) <i>Firmicutes</i> (40%) <i>Proteobacteria</i> (49%)	<i>Actinobacteria</i> (15,4%) <i>Bacteroidetes</i> (25,8%) <i>Firmicutes</i> (25,5%) <i>Proteobacteria</i> (11,7%) <i>Fusobacteria</i> (8,2%)
ГЭРБ	<i>Firmicutes</i> (69,9%) <i>Bacteroides</i> (20,2%) <i>Fusobacteria</i> (2,2%) <i>Proteobacteria</i> (2,2%) <i>Actinobacteria</i> (4,3%)	<i>Firmicutes</i> (33%) <i>Bacteroidetes</i> (10%) <i>Fusobacteria</i> (10%) <i>Proteobacteria</i> (43%) <i>Actinobacteria</i> (2%) TM7 (2%)	<i>Firmicutes</i> (27,3%) <i>Bacteroidetes</i> (34,2%) <i>Fusobacteria</i> (8,8%) <i>Proteobacteria</i> (3,5%) <i>Actinobacteria</i> (15,4%)

При сравнении микробиоты пищевода у больных и здоровых было снижено содержание бактерий типа *Proteobacteria* у лиц с ГЭРБ. А анализ бактериальных семейств показал, что в контрольной группе преобладали семейства, относящиеся к типу *Proteobacteria* (*Acetobacteraceae*, *Bdellovibrionaceae*, *Moraxellaceae*, *Pasteurellaceae*, *Rhodocyclaceae*), *Firmicutes* (*Bacillaceae*, *Clostridiales Insertae Sedis XI* типа) и *Fusobacteria* (*Fusobacteriaceae*). Сравнительный анализ пристеночной микробиоты пищевода, проведенный N. Liu и соавт выявил различия между здоровыми и

больными в содержании бактерии типа *Fusobacteria*, которые в большем количестве были представлены у пациентов с ГЭРБ [95].

Помимо изучения микробиоты пищевода, мы ставили перед собой задачу изучить бактериальный состав желудка. Целесообразность оценки состава желудочной микробиоты обусловлена тем, что патологический рефлюкс в пищевод желудочного содержимого является основным патогенетическим фактором развития ГЭРБ. Наиболее распространенными типами бактерий являлись *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*. Полученные нами данные схожи с результатами проведенных ранее исследований. Например, I. Amir и соавт. [52] продемонстрировали, что *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Fusobacteria* в наибольшем количестве встречаются в желудке. Согласно результатам исследования ЕМ. Вик и соавт также в желудке преобладали бактерии типов *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Fusobacteria* [56].

Проведенный нами сравнительный анализ состава микробиоты желудка у больных с ГЭРБ и здоровых добровольцев продемонстрировал двукратное снижение содержания *Proteobacteria* у пациентов. При сравнении различий содержания бактерий по семействам между контрольной и основной группой, мы получили такие же данные, как и в исследовании пристеночной микробиоты I. Amir и соавт. У больных с ГЭРБ отмечено снижение содержания бактерий семейств *Pasteurellaceae* и *Porphyromonadaceae*. Семейства *Staphylococcaceae*, которые являются основными представителями оральной микробиоты, чаще встречались в желудке у здоровых, по сравнению с больными ГЭРБ.

Мы изучили влияние двухмесячной терапии ИПП на состав микробиоты пищевода. Выявлено, увеличение относительного содержания бактерий типа *Proteobacteria* у больных после лечения. Учитывая, что полученные нами данные также свидетельствуют о более высоком содержании *Proteobacteria* у здоровых лиц, можно сделать заключение о восстановлении бактериального состава пищевода на фоне кислотосупрессивной терапии.

Наблюдались также изменения соотношения бактериальных семейств: увеличение *Bacteroidaceae*, *Bdellovibrionaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Caulobacteraceae*, *Pseudomonadaceae* и *Sphingomonadaceae* и снижение *Erysipelotrichaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Leptotrichiaceae*, *Prevotella* и *Peptococcaceae* 1. В исследовании I. Amir и соавт. было выявлено уменьшение *Comamonadaceae* (тип *Proteobacteria*) и увеличение *Clostridiaceae*, *Lachnospiraceae* и неклассифицируемые семейства *Clostridia*, *Micrococcaceae* и *Actinomycetaceae* увеличивались [52]. Различия в полученных данных можно объяснить, во - первых, тем, что в одном случае оценивалась полостная, в другом пристеночная микробиота. Во – вторых, выбором ИПП и его дозировкой. В нашем исследовании мы оценивали изменения микробиоты на фоне приема 20 мг рабепразола, в то время, как I. Amir и соавт. – на 30 мг 2 раза в день лансопразола.

Несмотря на то, что согласно некоторым данным пребиотики не изменяют пропорцию бактериальных сообществ, входящих в микробиом [93], добавление пробиотического комплекса к лечению ИПП привело к увеличению в пищеводе бактерий семейств *Bacillales*, *Camobacteriaceae*, *Bdellovibrionaceae*, *Comamonadaceae*, *Pasteurellaceae*, *Pseudomonadaceae* и уменьшению *Mycoplasmataceae*. Относительное содержание *Proteobacteria* увеличивалось как при монотерапии, так и при комбинированной терапии и, вероятно, обусловлено кислотосупрессивным действием рабепразола. Однако при добавлении пробиотика выявлено снижение *Tenericutes* и *Cyanobacteria*, относительное количество которых до и после лечения было менее 1%.

В желудке восьминедельная кислотосупрессивная терапия привела к уменьшению относительного содержания бактерий типа *Bacteroidetes*. Было также выявлено повышение *Proteobacteria*, однако их изменение не достигло уровня статистической значимости. На уровне семейств наблюдалось снижение *Bacillales* и *Lachnospiraceae* (тип *Firmicutes*), *Fusobacteriaceae* (тип *Fusobacteria*), *Prevotellaceae* (тип *Bacteroidetes*), *Pasteurellaceae* и *Campylobacteraceae* (тип *Proteobacteria*), и повышение *Enterococcaceae* и

Erysipelotrichaceae (тип *Firmicutes*). I. Amir и соавт в своей работе продемонстрировали несколько иные изменения: снижение *Moraxellaceae* (тип *Proteobacteria*), *Flavobacteriaceae* (тип *Bacteroidetes*), *Comamonadaceae* (тип *Proteobacteria*) и *Methylobacteriaceae* (тип *Proteobacteria*) и повышение *Erysipelotrichaceae* (тип *Firmicutes*) и неклассифицируемых семейств *Clostridiales* [52]. Одним из исследований, посвященных изучению влияния ИПП на микробиоту желудка, является работа F.P. Sterbini и соавт [128]. Учеными также были отмечены незначительные изменения бактериального состава в желудке, но характеризующиеся увеличением содержания *Streptococcaceae* (тип *Firmicutes*).

При добавлении пробиотика к терапии ИПП не было выявлено никаких изменений на уровне типов, а на уровне семейств можно отметить повышение *Burkholderiaceae*, *Moraxellaceae* и снижение *Enterococcaceae* и *Porphyromonadaceae*.

Несмотря на то, что в настоящее время обсуждается возможная роль пробиотиков в канцерпревенции, имеющихся данных недостаточно, чтобы сделать однозначное заключение о том, действительно ли эта группа препаратов может предотвратить развитие рака желудка и повлиять на течение ГЭРБ [113].

В нашей работе мы изучили не только микробный состав пищевода и желудка, но также оценили влияние pH на микробиоту. Подобных исследований в настоящее время в литературе практически нет, что делает данную работу весьма актуальной.

При анализе микробиоты пищевода и показателей 24- часовой pH-импедансометрии, было выявлено, что на бактериальный состав пищевода влияют только жидкие рефлюксы и не оказывают влияния газовые и смешанные. Увеличение количества жидких рефлюксов сопровождается повышением в пищеводе грамотрицательных бактерий типа *Bacteroidetes* и снижением грамположительных *Firmicutes*. 24- часовая экспозиция болюса в положении лежа также сопровождается увеличением количества *Bacteroidetes*.

А с увеличением времени экспозиции болюса на высоте 15 см над НПС ведет к снижению *Firmicutes*. L. Yang и соавт. выдвинули гипотезу о преобладании грамположительных бактерии у здоровых и грамотрицательных – у больных с ГЭРБ [146]. Полученные нами результаты могут объяснить данное предположение, так как количество ГЭР у лиц, страдающих ГЭРБ гораздо больше, чем у здоровых лиц. Хотя нельзя не отметить, что при сравнении микробиоты пищевода у основной и контрольной группы, мы не выявили различий в содержании как грамположительных бактерий в целом, так и отдельно *Firmicutes*.

Анализ связи характера рефлюктата и микробиоты пищевода выявил снижение содержания *Proteobacteria* при увеличении количества кислых рефлюксов в ночное время. А у лиц с более высоким числом слабокислых рефлюксов - уменьшение количества *Actinobacteria* и увеличение *Candidatus Saccharibacteria*.

По результатам нашего исследования уровень pH в желудке не влиял на относительное содержание наиболее распространенных типов бактерий. Но было установлено, что чем выше был pH в желудке после еды, тем большее количество бактерий типа *Firmicutes* там выявлялось. По мнению некоторых исследователей на фоне кислотосупрессивной терапии, когда $\text{pH} > 3,8$, в желудке происходит избыточный бактериальный рост [129]. Это ведет к изменению соотношения конъюгированных и неконъюгированных желчных кислот с 4:1 у пациентов без бактериального роста до 1:3 у пациентов с избыточным ростом бактерий более 1000 / мл. Однако данное исследование ограничено небольшой выборкой пациентов и требуется дальнейшее изучение этого вопроса.

Несмотря на имеющиеся данные о микробиоте пищевода, в настоящее время до конца остается неясным изменения бактериального состава являются причиной или следствием развития тех или иных заболеваний [132, 137, 140]. Изучение микробиоты находится на начальном этапе и необходимо проделать большую работу для накопления достаточного количества данных о

взаимодействии микробиома с организмом человека. Результаты нашего исследования вносят весомый вклад в современные представления о микробиоте пищевода и желудка, а также влиянии на их состав ИПП и пробиотиков.

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 моноклеарных 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 *Firmicutes* 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 СОКРАЩЕНИЙ

АКП – аденокарцинома пищевода

ВПС – верхний пищеводный сфинктер

ГЭРБ - гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь

ИМТ – индекс массы тела

ИПП - ингибиторы протонной помпы

ЛПС - липополисахарид

ПЖС - пищеводно- желудочное соединение

ПРНПС – преходящие расслабления нижнего пищеводного сфинктера

НПС – нижний пищеводный сфинктер

НЭРБ – неэрозивная рефлюксная болезнь

УДХК - урсодезоксихолевая кислота

ФАТ – фактор активации тромбоцитов

ЦОГ - циклооксигеназа

ЭГДС – эзофагогастродуоденоскопия

IL – интерлейкин

iNOS - индуцибельная синтаза оксида азота

NF-κB – ядерный фактор каппа - би

Th - Т-хелперы

TLRs - толл- подобные рецепторы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айвазова Р.А., Поликанова Е.Н., Самсонов А.А., Юренев Г.Л., Еварницкая Н.Р., Шахбазян Л.Р., Андреев Д.Н. Внепищеводные проявления гастроэзофагеальной рефлюксной болезни: фокус на стоматологические симптомы // Фарматека, 2017, №13, С. 48–52.
2. Бондаренко В. М., Лиходед В.Г. Роль TOLL-подобных рецепторов в реализации терапевтического эффекта пробиотиков // Эксперим. и клин. гастроэнтерол, 2010, №3. С. 78 - 82.
3. Бордин Д.С., Бор С., Васильев Ю.В. Методология и возможности манометрии при диагностике заболеваний пищевода // Тер.архив, 2007, №.4, С. 63-71.
4. Булгаков С.А. Феномен ночного кислотного прорыва на фоне лечения ингибиторами протонной помпы и его терапевтическая коррекция // Фарматека, 2012, №13, С. 62-66.
5. Джахая Н.Л. Отдаленные результаты лечения ГЭРБ: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. - М., 2013. - 24 с.
6. Джахая Н.Л., Трухманов А.С., Коньков М.Ю., Склянская О.А., Шептулин А.А., Ивашкин В.Т. Возможности 24-часового мониторингирования рН в пищеводе в диагностике и контроле эффективности лечения ГЭРБ // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2012, №1, С. 23-30.
7. Дронова О.Б., МIRONЧЕВ О.А. Анатомо-эндоскопические особенности пищеводно-желудочного перехода и их клиническое значение // Вопр реконструкт и пластич хир, 2007, №3-4, С. 40 - 2.
8. Евсютина Ю.В. Клинико-морфологические характеристики гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, рефрактерной к лечению ингибиторами протонной помпы: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. - М., 2015. - 25 с.

9. Евсютина Ю.В., Ивашкин В.Т. Роль микробиома в развитии болезней пищевода // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2016, Т.26, №3, С. 11-16.
10. Егшатын Л.В., Ткачева О.Н., Алексеев Д.Г., Тяхт А.В., Попенко А.С., Кострюкова Е.С., Бабенко В.В., Вахитова М.Т., Бойцов С.А. Особенности микробиоты кишечника у лиц с различной массой тела // Клин микробиол антимикроб химиотер, 2016, Т.18, №3, С. 212-225.
11. Зайратьянц О.В. Зайратьянц Г.О., Мовтаева П.Р. Проблемы современной гастроэнтерологии: пищевод Баррета // Клин и экспер морфол, 2012, №2, С. 9-16.
12. Зайратьянц О.В., Маев И.В., Смольяникова В.А., Мовтаева П.Р. Патологическая анатомия пищевода Баррета // Арх пат, 2011, Т.73, №3, С. 21-6.
13. Ивашкин В.Т., Ивашкин К.В. Микробиом человека в приложении к клинической практике // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии, 2017, Т.27, №6, С. 4-13.
14. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Трухманов А.С. Пищевод Баррета. В двух томах. М.: Шико; 2011.
15. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Трухманов А.С., Баранская Е.К., Дронова О.Б., Зайратьянц О.В., Пасечников В.Д., Сайфутдинов Р.Г., Шептулин А.А., Кучерявый Ю.А., Лапина Т.Л., Сторонова О.А., Кайбышева В.О. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь // Клинические рекомендации. Российская Гастроэнтерологическая Ассоциация, 2014, Москва, 23 с.
16. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Трухманов А.С., Баранская Е.К., Дронова О.Б., Зайратьянц О.В., Сайфутдинов Р.Г., Шептулин А.А., Лапина Т.Л., Пирогов С.С., Кучерявый Ю.А., Сторонова О.А., Андреев Д.Н. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2017, Т.27, №4, С. 75-95.
17. 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, С. 4-12.

18. 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, С. 93-100.

19. Ивашкин В.Т., Трухманов А.С. Болезни пищевода. (ред.). М.: Триада-Х; 2000. 179 с.

20. Ивашкин В.Т., Трухманов А.С. Эволюция представлений о роли нарушений двигательной функции пищевода в патогенезе гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2010, Т.20, №2, С. 13-9.

21. Ивашкин В.Т., Трухманов А.С., Годжелло Э.А., Маев И.В., Евсютина Ю.В., Лапина Т.Л., Сторонова О.А. Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению ахалазии кардии и кардиоспазма // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2016, Т.26, №4, С. 36-54.

22. Ивашкин В.Т., Трухманов А.С., Шептулин А.А. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь // Рекомендации по диагностике и лечению. М.; 2013. 20 с.

23. Кайбышева В.О., Сторонова О.А., Трухманов А.С., Ивашкин В.Т. Возможности внутрипищеводной рН-импедансометрии в диагностике ГЭРБ // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2013, Т.23, № 2, С. 4-16.

24. Кардымон О.Л., Кудрявцева А.В. Молекулярно-генетические методы для исследования микробиома кишечника // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2016, Т.26, №4, С. 4-13.

25. Маев И.В., Андреев Д.Н., Дичева Д.Т. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: от патогенеза к терапевтическим аспектам // Consilium medicum, 2013, Т.15, №8, С. 30-34.

26. Маев И.В., Баркалова Е.В., Овсепян М.А., Андреев Д.Н., Кучерявый Ю.А. Показатели рН-импедансометрии и манометрии пищевода высокого

- разрешения у пациентов с различными формами гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2018, Т.28, №4, С. 23–35.
27. Маев И.В., Баркалова Е.В., Овсепян М.А., Кучерявый Ю.А., Андреев Д.Н. Возможности рН-импедансометрии и манометрии высокого разрешения при ведении пациентов с рефрактерной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью // Терапевтический архив, 2017, Т.89, №2, С. 76-83.
28. Маев И.В., Самсонов А.А., Андреев Н.Г. Симптом изжоги: привычный дискомфорт или серьезная проблема? // Фарматека, 2011, №10, С. 12-17.
29. Маев И.В., Самсонов А.А., Андреев Н.Г., Белявцева Е.В. Длительная, комбинированная терапия ГЭРБ – путь к поддержанию должного качества жизни и гарантия от ослож. течения заболевания // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии, 2011, №2, С. 22-26.
30. Маев И.В., Самсонов А.А., Белый П.А., Лебедева Е.Г. ГЭРБ - лидер кислотозависимой патологии ВО ЖКТ // Приложение Consilium Medicum. Гастроэнтерология, 2012, №1, С. 18-24.
31. Минушкин О.Н., Масловский Л.В., Теплухина О.Ю., Аникина Н.Ю. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: эпидемиологические, патогенетические, клинико-диагностические и терапевтические аспекты // Consilium Medicum, 2006, №2, С. 31-37.
32. Пасечников Д.В., Булгаков С.А., Пасечников В.Д. Возможности применения 24-часовой манометрии в диагностике нарушений двигательной функции пищевода у больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2009, Т.19, №5, С. 34–38.
33. Плотникова Е.Ю., Вологжанина Л.Г., Самсонов А.А., Андреев Д.Н., Игумнова О.А. Течение ГЭРБ по результатам ретроспективного 5-летнего наблюдения // Фарматека, 2016, №6, С. 64-68.
34. Рощина Т.В. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у больных бронхиальной астмой: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. - М., 2002 - 21 с.

35. Румянцева Д.Е., Трухманов А.С., Кудрявцева А.В., Ивашкин В.Т. Влияние кислотосупрессии на микробиоту желудочно-кишечного тракта // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2018, Т.28, №1, С. 78–88.
36. 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 // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2018, Т.28, №4, С. 36–46.
37. Самсонов А.А., Одинцова А.Н. Антацидные препараты в лечении гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // РМЖ, 2012, №35, С. 1697–1701.
38. Семенихина Е.В. Клинические особенности течения, патофизиологические аспекты гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у пациентов с ожирением на фоне сахарного диабета 2-го типа : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. - Казань, 2019. - 20 с.
39. Сторонова О.А., Трухманов А.С. 24-часовая рН-импедансометрия. Дифференциальный диагноз функциональных заболеваний пищевода. Пособие для врачей. Под ред. акад. РАН, проф. В.Т. Ивашкина – М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2018. 32 с.
40. Сторонова О.А., Трухманов А.С. Методика изучения двигательной функции пищевода. Клиническая медицина: Пособие для последипломного образования. Под ред. В.Т. Ивашкина. М.: Медпрактика-М, 2011. 36 с.
41. Сторонова О.А., Трухманов А.С. Практическому врачу о продолжительной интрагастральной рН-метрии: Пособие для врачей. Ивашкин В.Т. (ред.) М.; 2012. 16 с.
42. Сторонова О.А., Трухманов А.С., Джахая Н.Л., Ивашкин В.Т. Нарушения пищевода клиренса при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и возможности их коррекции // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2012, Т.21, №2, С. 14-21.
43. Сторонова О.А., Трухманов А.С., Ивашкин В.Т. Манометрия высокого разрешения в клинической практике: анализ двигательной функции пищевода в

соответствии с Чикагской классификацией // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2018, Т.28, №2, С. 11-23.

44. Сторонова О.А., Трухманов А.С., Ивашкин В.Т. Роль защитных факторов СО пищевода в лечении гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Клинический журнал гастроэнтерол гепатол, 2014, №5, С. 37-42.

45. Трухманов А.С. Влияние антагонистов допаминовых рецепторов на двигательную функцию желудочно-кишечного тракта // Леч врач, 2012, №9, С. 80-83.

46. Трухманов А.С. Диагностика и лечение гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Терапевтический архив, 2011, Т.83, №8, С. 44-48.

47. Трухманов А.С., Джахая Н.Л., Кайбышева В.О., Сторонова О.А. Новые аспекты рекомендаций по лечению больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью // Гастроэнтерол гепатол: новости, мнения, обучение, 2013, №1, С. 2-9.

48. Трухманов А.С., Кайбышева В.О. рН-импедансометрия пищевода. Пособие для врачей / Под ред. акад. РАМН, проф. В.Т. Ивашкина - М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2013. 32 с.

49. Трухманов А.С., Сторонова О.А., Ивашкин В.Т. Клиническое значение исследования двигательной функции пищеварительной системы: прошлое, настоящее, будущее // Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол, 2013, Т.23, №5, С. 4-14.

50. Шульпекова Ю.О., Ивашкин В.Т. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: клинические и фармакологические аспекты // РМЖ, 2002, Т.10, №4, С. 200-205.

51. Юрченко, Ирина Николаевна. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у молодых: клинко-эндоскопические, функциональные и морфологические критерии возникновения и течения: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. - Самара, 2003. - 22 с.

52. Amir I, Konikoff FM, Oppenheim M, Gophna U, Half EE. Gastric microbiota is altered in oesophagitis and Barrett's oesophagus and further modified by proton pump inhibitors // Environment Microbiol, 2014, Vol. 16, No 9, pp. 2905-14.

53. Armstrong D, Bennett JR, Blum AL, Dent J, De Dombal FT, Galmiche JP, Lundell L, Margulies M, Richter JE, Spechler SJ, Tytgat GN, Wallin L. The endoscopic assessment of esophagitis: a progress report on observer agreement // *Gastroenterology*, 1996, Vol. 111, No. 1, pp. 85-92.
54. Babar M, Ryan A.W, Anderson L.A, Segurado R, Turner G, Murray LJ, Murphy SJ, Johnston BT, Comber H, Reynolds JV, McManus R. Genes of the interleukin-18 pathway are associated with susceptibility to Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma // *Am J Gastroenterol*, 2012, Vol. 107, No. 9, pp. 1331-41.
55. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Book Review *Int. J. of Syst. Bact.*; 1985, p. 408.
56. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, Perez-Perez G, Blaser MJ, Relman DA. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2006, No. 103, pp. 732–737.
57. Blackett KL, Siddhi SS, Cleary S, Steed H, Miller MH, Macfarlane S, Macfarlane GT, Dillon JF. Esophageal bacterial biofilm changes in gastroesophageal reflux disease, Barrett's and esophageal carcinoma: association or causality? // *Aliment Pharmacol Ther*, 2013, Vol. 37, No. 11, pp. 1084-92.
58. Boeckxstaens G., Hashem B El-Serag, André J P M Smout, Peter J Kahrilas. Symptomatic reflux disease: the present, the past and the future // *Gut*, 2014, No. 63, pp. 1185–1193.
59. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data // *Bioinformatics*, 2014, Vol. 30, No. 15, pp. 2114-20.
60. Bor S, Mandiracioglu A, Kitapcioglu G, Caymaz-Bor C, Gilbert RJ. Gastroesophageal reflux disease in a low-income region in Turkey // *Am J Gastroenterol*, 2005, No. 100, pp. 759–65.
61. Bowrey DJ, Williams GT, Carey PD, Clark GW. Inflammation at the cardio-oesophageal junction: relationship to acid and bile exposure // *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2003, Vol. 15, No. 1, pp. 49-54.

62. Bredenoord AJ, Weusten BL, Timmer R, Smout AJ. Characteristics of gastroesophageal reflux in symptomatic patients with and without excessive esophageal acid exposure // *Am J Gastroenterol*, 2006, No. 101, pp. 2470–2475.
63. Calatayud S, Garcia-Zaragoza E, Hernandez C, Quintana E, Felipe V, Esplugues JV, Barrachina MD. Downregulation of nNOS and synthesis of PGs associated with endotoxin-induced delay in gastric emptying // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, No. 283, pp. 1360–1367.
64. Cao W, Cheng L, Behar J, Fiocchi C, Biancani P, Harnett KM. Proinflammatory cytokines alter/reduce esophageal circular muscle contraction in experimental cat esophagitis // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004, No. 287, pp. 1131–1139.
65. Cao W, Harnett KM, Cheng L, Kirber MT, Behar J, Biancani P. H₂O₂: a mediator of esophagitis-induced damage to calcium-release mechanisms in cat lower esophageal sphincter // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, No. 288, pp. 1170–1178.
66. Carlsson R, Galmiche JP, Dent J, Lundell L, Frison L. Prognostic factors influencing relapse of oesophagitis during maintenance therapy with antisecretory drugs: a meta-analysis of long-term omeprazole trials // *Aliment Pharmacol Ther*, 1997, No. 11, pp. 473–482.
67. Carlson DA, Pandolfino J. High Resolution Manometry and Esophageal Pressure Topography: Filling the Gaps of Convention Manometry // *Gastroenterol Clin North Am*, 2013, Vol. 42, No. 1, pp. 1–15.
68. Castell DO, Tutuian R. Diagnosis of GERD: Multichannel intraluminal impedance. *Practical Gastroenterology* 2005; 19(3):13–29.
69. Cheng L, Cao W, Behar J, Fiocchi C, Biancani P, Harnett KM. Acid-induced release of platelet-activating factor by human esophageal mucosa induces inflammatory mediators in circular smooth muscle // *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, No. 319, pp. 117–126.

70. Cheng L, Harnett KM, Cao W, Liu F, Behar J, Fiocchi C, Biancani P. Hydrogen peroxide reduces lower esophageal sphincter tone in human esophagitis // *Gastroenterology*, 2005, No. 129, pp. 1675–1685.
71. Danjo A, Yamaguchi K, Fujimoto K, Saitoh T, Inamori M, Ando T, Shimatani T, Adachi K, Kinjo F, Kuribayashi S, Mitsufuji S, Fujiwara Y, Koyama S, Akiyama J, Takagi A, Manabe N, Miwa H, Shimoyama Y, Kusano M. Comparison of endoscopic findings with symptom assessment systems (FSSG and QUEST) for gastroesophageal reflux disease in Japanese centres // *J Gastroenterol Hepatol*, 2009, Vol. 24, No. 4, pp. 633-8.
72. Dent J. Pathogenesis of gastro-oesophageal reflux disease and novel options for its therapy // *Neurogastroenterol Motil*, 2008, Vol. 20, No. 1, pp. 91-102.
73. Fan YP, Chakder S, Gao F, Rattan S. Inducible and neuronal nitric oxide synthase involvement in lipopolysaccharide-induced sphincteric dysfunction. *American Journal of Physiology // Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2001, No. 280, pp. 32–42.
74. Fiocca R, Mastracci L, Riddell R, Takubo K, Vieth M, Yerian L, Sharma P, Fernström P, Ruth M. Development of consensus guidelines for the histologic recognition of microscopic esophagitis in patients with gastroesophageal reflux disease: the Esohisto project // *Human Pathology*, 2010, No. 41, pp. 223–231.
75. Fornari F, Blondeau K, Mertens V, Tack J, Sifrim D. Nocturnal gastroesophageal reflux revisited by impedance-pH monitoring // *J Neurogastroenterol Motil*, 2011, Vol. 17, No. 2, pp. 48–57.
76. Fornari F, Bravi I, Penagini R, Tack J, Sifrim D. Multiple rapid swallowing: a complementary test during standard oesophageal manometry // *Neurogastroenterol Motil*, 2009, No. 21, pp. 718–741.
77. Fox M, Hebbard G, Janiak P, Brasseur JG, Ghosh S, Thumshirn M, Fried M, Schwizer W. High-resolution manometry predicts the success of oesophageal bolus transport and identifies clinically important abnormalities not detected by conventional manometry // *Neurogastroenterol Motil*, 2004, No. 16, pp. 533–542.

78. Freedberg DE, Lebwohl B, Abrams JA. The impact of proton pump inhibitors on the human gastrointestinal microbiome // *Clin Lab Med*, 2014, Vol. 34, No. 4, pp. 771-85.
79. Frosali S, Pagliari D, Gambassi G, Landolfi R, Pandolfi F, Cianci R. How the Intricate Interaction among Toll-Like Receptors, Microbiota, and Intestinal Immunity Can Influence Gastrointestinal Pathology // *J Immunol Res*, 2015, 489821.
80. Fujimoto K, Hongo M; Maintenance Study Group. Risk factors for relapse of erosive GERD during long-term maintenance treatment with proton pump inhibitor: a prospective multicenter study in Japan // *J Gastroenterol*, 2010, No. 45, pp. 1193-1200.
81. Goldberg HI, Dodds WJ, Gee S, Montgomery C, Zboralske FF. Role of acid and pepsin in acute experimental esophagitis // *Gastroenterol*, 1969, Vol. 56, No. 2, pp. 223-30.
82. Herregods TVK, Roman S, Kahrilas PJ, Smout AJPM, Bredenoord AJ. Normative values in esophageal high-resolution manometry // *Neurogastroenterol Motil*, 2015, No. 27, pp. 175-187.
83. Hu J, Jacinto R, McCall C, Li L. Regulation of IL-1 receptor-associated kinases by lipopolysaccharide // *J Immunol*, 2002, No. 168, pp. 3910-3914.
84. Huo X, Zhang X, Yu C, Zhang Q, Cheng E, Wang DH, Pham TH, Spechler SJ, Souza RF. In oesophageal squamous cells exposed to acidic bile salt medium, omeprazole inhibits IL-8 expression through effects on nuclear factor- κ B and activator protein-1 // *Gut*, 2014, Vol. 63, No. 7, pp. 1042-52.
85. Jaspersen D, Diehl KL, Schoepfner H, Geyer P, Martens E. A comparison of omeprazole, lansoprazole and pantoprazole in the maintenance treatment of severe reflux oesophagitis // *Aliment Pharmacol Ther*, 1998, No. 12, pp. 49-52.
86. Kawara F, Fujita T, Morita Y, Uda A, Masuda A, Saito M, Ooi M, Ishida T, Kondo Y, Yoshida S, Okuno T, Yano Y, Yoshida M, Kutsumi H, Hayakumo T, Yamashita K, Hirano T, Hirai M, Azuma T. Factors associated with residual gastroesophageal reflux disease symptoms in patients receiving proton pump

inhibitor maintenance therapy // *World J Gastroenterol*, 2017, Vol. 23, No. 11, pp. 2060-2067.

87. Kao CH, Ho YJ, ChangLai SP, Liao KK. Evidence for decreased salivary function in patients with reflux esophagitis // *Digestion*, 1999, Vol. 60, No. 3, pp. 191–5.

88. Kahrilas PJ, Bredenoord AJ, Fox M, Prakash Gyawali C, Roman S, Smout AJPM, Pandolfino JE. The Chicago Classification of Esophageal Motility Disorders, v3.0 // *Neurogastroenterol Motil*, 2015, Vol. 27, No. , pp. 160-174.

89. Katz PO, Gerson LB, Vela MF. Guidelines for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease // *Am J Gastroenterol*, 2013, Vol. 108, No. 3, pp. 308-28.

90. Kessing BF, Bredenoord AJ, Smout AJ. Mechanisms of gastric and supragastric belching: a study using concurrent high-resolution manometry and impedance monitoring // *Neurogastroenterol Motil*, 2012, Vol. 24, No. 12, pp. 573-9.

91. Kessing BF, Weijenberg PW, Smout AJ, Hillenius S, Bredenoord AJ. Water-perfused esophageal high-resolution manometry; normal values and validation // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, No. 306, pp. 491-495.

92. Konturek PC, Nikiforuk A, Kania J, Raithel M, Hahn EG, Muhlendorfer S. Activation of NFkappaB represents the central event in the neoplastic progression associated with Barrett's esophagus: a possible link to the inflammation and overexpression of COX-2, PPARgamma and growth factors // *Dig Dis Sci*, 2004, No. 49, pp. 1075–1083.

93. Kristensen NB, Bryrup T, Allin KH, Nielsen T, Hansen TH, Pedersen O. Alterations in fecal microbiota composition by probiotic supplementation in healthy adults: a systematic review of randomized controlled trials // *Genome Med*, 2016, Vol. 8, No. 1, P. 52.

94. Li Y, Xie C, Wu K, Chen M, Xiao Y. Motility characteristics in the transition zone in Gastroesophageal Reflux Disease (GORD) patients // *BMC Gastroenterol*, 2016, Vol. 16, No. 1, P. 106.

95. Liu N, Ando T, Ishiguro K, Maeda O, Watanabe O, Funasaka K, Nakamura M, Miyahara R, Ohmiya N, Goto H. Characterization of bacterial biota in the distal esophagus of Japanese patients with reflux esophagitis and Barrett's esophagus // *BMC Infect Dis*, 2013, No. 13, P. 130.
96. Locke GR, Talley NJ, Weaver AL, Zinsmeister AR. A new questionnaire for gastroesophageal reflux disease // *Mayo Clin Proc*, 1994, Vol. 69, No. 6, pp. 539-47.
97. Lundell LR, Dent J, Bennett JR, Blum AL, Armstrong D, Galmiche JP, Johnson F, Hongo M, Richter JE, Spechler SJ, Tytgat GN, Wallin L. Endoscopic assessment of oesophagitis: clinical and functional correlates and further validation of the Los Angeles classification // *Gut*, 1999, No. 45, pp. 172–180.
98. Mello M, Gyawali CP. Esophageal manometry in gastroesophageal reflux disease // *Gastroenterol Clin N Am*, 2014, No. 43, pp. 69-87.
99. Meyer GW, Austin RM, Brady CE, Castell DO. Muscle anatomy of the human esophagus. // *J Clin Gastroenterol*, 1986, No. 8, pp. 131–134.
100. Min YW, Shin YW, Cheon GJ, Park KS, Kim HS, Sohn C-Il, Kim TN, Moon HC, Rhee P-L. Recurrence and Its Impact on the Health-related Quality of Life in Patients with Gastroesophageal Reflux Disease: A Prospective Follow-up Analysis // *J Neurogastroenterol Motil*, 2016, Vol. 22, No. 1, pp. 86–93.
101. Murray JA, Clouse RE, Conklin JL. Components of standard esophageal manometry // *Neorogastroenterol. Motil*, 2003, No. 15, pp. 591-606.
102. Nagahara A, Asaoka D, Hojo M, Sasaki H, Shimada Y, Matsumoto K, Ueyama H, Shibuya T, Sakamoto N, Osada T, Watanabe S. Difference in efficacy of proton pump inhibitor between new-onset and recurrent gastroesophageal reflux disease: Result from a study of on-demand versus continuous maintenance therapy in Japan // *Hippokratia*, 2015, Vol. 19, No. 1, pp. 53-6.
103. Osias GL, Bromer MQ, Thomas RM, Friedel D, Miller LS, Suh B, Lorber B, Parkman HP, Fisher RS. Esophageal bacteria and Barrett's esophagus: a preliminary report // *Dig Dis Sci*, 2004, No. 49, pp. 228–36.
104. O'Riordan JM, Abdel-latif MM, Ravi N, McNamara D, Byrne PJ, McDonald GS, Keeling PW, Kelleher D, Reynolds JV. Proinflammatory cytokine and nuclear

- factor kappa-B expression along the inflammation-metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence in the esophagus // *Am J Gastroenterol*, 2005, No. 100, pp. 1257–1264.
105. Orlando RC. Pathogenesis of reflux esophagitis and Barrett's esophagus // *Med Clin North Am*, 2005, Vol. 89, No. 2, pp. 219–41.
106. Pandolfino JE, Fox MR, Bredenoord AJ, Kahrilas PJ. High-resolution manometry in clinical practice: utilizing pressure topography to classify oesophageal motility abnormalities // *Neurogastroenterol Motil*, 2009, Vol. 21, No. 8, pp. 796-806.
107. Parikh HI, Koparde VN, Bradley SP, Buck GA, Sheth NU. MeFiT: merging and filtering tool for illumina paired-end reads for 16S rRNA amplicon sequencing // *BMC Bioinformatics*, 2016, Vol. 17, No. 1, P. 491.
108. Passaretti S, Mazzoleni G, Vailati C, Testoni PA. Oropharyngeal acid reflux and motility abnormalities of the proximal esophagus // *World J Gastroenterol*, 2016, Vol. 22, No. 40, pp. 8991–8998.
109. Pei Z, Bini EJ, Yang L, Zhou M, Francois F, Blaser MJ. Bacterial biota in the human distal esophagus // *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, Vol. 101, pp. 4250–4255.
110. Rieder F, Biancani P, Harnett K, Yerian L, Falk GW. Inflammatory mediators in gastroesophageal reflux disease: impact on esophageal motility, fibrosis, and carcinogenesis // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, Vol. 298, No. 5, pp. 571–58.
111. Plein K, Hotz J, Wurzer H, Fumagalli I, Lühmann R, Schneider A. Pantoprazole 20 mg is an effective maintenance therapy for patients with gastro-oesophageal reflux disease // *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2000, No. 12, pp. 425-432.
112. Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, Johansson SE, Lind T, Bolling-Sternevald E, Graffner H, Vieth M, Stolte M, Engstrand L, Talley NJ, Agréus L. High prevalence of gastroesophageal reflux symptoms and esophagitis with or without symptoms in 159 the general adult Swedish population: a Kalixanda study report // *Scand J Gastroenterol*, 2005, No. 40, pp. 275–285.

113. Russo F, Linsalata M, Orlando A. Probiotics against neoplastic transformation of gastric mucosa: Effects on cell proliferation and polyamine metabolism // *World J Gastroenterol*, 2014, Vol. 20, No. 37, pp. 13258–13272.
114. Saleh CMG, Smout JPM, Bredenoord AJ. The diagnosis of gastro-esophageal reflux disease cannot be made with barium esophagograms // *Neurogastroenterol Motil*, 2015, No. 27, pp. 195-200.
115. Sarbia M, Donner A, Gabbert HE. Histopathology of the gastroesophageal junction: a study on 36 operation specimens // *Am J Surg Pathol*, 2002, Vol. 26, No. 9, pp. 1207-12.
116. Savarino E, Bredenoord AJ, Fox M, Pandolfino JE, Roman S, Gyawali CP. International Working Group for Disorders of Gastrointestinal Motility and Function. Expert consensus document: Advances in the physiological assessment and diagnosis of GERD // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, Vol. 14, No. 11, pp. 665-676.
117. Savarino E, Zentilin P, Tutuian R, Pohl D, Casa DD, Frazzoni M, Cestari R, Savarino V. The role of nonacid reflux in NERD: lessons learned from impedance-pH monitoring in 150 patients off therapy // *Am J Gastroenterol*, 2008, No. 103, pp. 2685–2693.
118. Shaheen NJ, Hansen RA, Morgan DR, Gangarosa LM, Ringel Y, Thiny MT, Russo MW, Sandler RS. The burden of gastrointestinal and liver diseases // *Am J Gastroenterol*, 2006, No. 101, pp. 2128–38.
119. Shaheen NJ, Weinberg DS, Deaberg TD. Upper endoscopy for gastroesophageal reflux disease: Best practice advice from the clinical guidelines of the American College of Physicians // *Ann Intern Med*, 2012, Vol. 157, No. 11, pp. 808-16.
120. Shay S, Richter J. Direct comparison of impedance, manometry, and pH probe in detecting reflux before and after a meal // *Dig. Dis. Sci*, 2005, Vol. 50, No. 9, pp. 1584–1590.
121. Shay S, Tutuian R, Sifrim D, Vela M, Wise J, Balaji N, Zhang X, Adhami T, Murray J, Peters J, Castell D. Twenty-four hour ambulatory simultaneous impedance and pH monitoring: a multicenter report of normal values from 60 healthy volunteers // *Am. J. Gastroenterol*, 2004, No. 99, pp. 1037–1043.

122. Sifrim D, Castell D, Dent J, Kahrilas PJ. Gastroesophageal reflux monitoring: Review and consensus report on detection and definitions of acid, non-acid, and gas reflux // *Gut*, 2004, No. 53, pp. 1024–1031.
123. Sifrim D, Fornari F. Esophageal impedance-pH monitoring // *Dig Liver Dis*, 2008, No. 40, pp. 161-6.
124. Silny J. Intraluminal multiple electric impedance procedure for measurement of gastrointestinal motility // *J. Gastrointest. Motil*, 1991, No. 3, pp. 151–162.
125. Sloan S, Kahrilas PJ. Impairment of esophageal emptying with hiatal hernia // *Gastroenterology*, 1991, No. 100, pp. 596–605.
126. Souza RF, Huo X, Mittal V, Schuler CM, Carmack SW, Zhang HY, Zhang X, Yu C, Hormi-Carver K, Genta RM, Spechler SJ. Gastroesophageal reflux may cause esophagitis through a cytokine-mediated mechanism, not by caustic (acid) injury // *Gastroenterology*, 2009, Vol. 137, No. 5, pp. 1776–84.
127. Stanghellini V. Three-month prevalence rates of gastrointestinal symptoms and the influence of demographic factors: Results from the Domestic International Gastroenterology Surveillance Study (DIGEST) // *Scand J Gastroenterol*, 1999, No. 231(Suppl), pp. 20-8.
128. Sterbini FP, Palladini A, Masucci L, Cannistraci CV, Pastorino R, Ianiro G, Bugli F, Martini C, Ricciardi W, Gasbarrini A, Sanguinetti M, Cammarota G, Posteraro B. Effects of Proton Pump Inhibitors on the Gastric Mucosa-Associated Microbiota in Dyspeptic Patients // *Appl Environ Microbiol*, 2016, Vol. 82, No. 22, pp. 6633–6644.
129. Theisen J, Nehra D, Citron D, Johansson J, Hagen JA, Crookes PF, DeMeester SR, Bremner CG, DeMeester TR, Peters JH. Suppression of gastric acid secretion in patients with gastroesophageal reflux disease results in gastric bacterial overgrowth and deconjugation of bile acids // *J Gastrointest Surg*, 2000, No. 4, pp. 50–54.
130. Tobey NA, Carson JL, Alkiek RA, Orlando RC. Dilated intercellular spaces: a morphological feature of acid reflux—damaged human esophageal epithelium // *Gastroenterology*, 1996, Vol 11, No. 5, pp. 1200-1205.

131. Tsoukali E, Sifrim D. Investigation of extraesophageal gastroesophageal reflux disease // *Ann Gastroenterol*, 2013, Vol. 26, No. 4, pp. 290-5.
132. Tsuda A, Suda W, Morita H, Takanashi K, Takagi A, Koga Y, Hattori M. Influence of Proton-Pump Inhibitors on the Luminal Microbiota in the Gastrointestinal Tract // *Clin Transl Gastroenterol*, 2015, Vol. 6, No. 6, P. 89.
133. Tutuian R, Castell DO. Multichannel intraluminal impedance: general principles and technical issues // *Gastrointest. Endosc. Clinics of N.Am*, 2005, No. 15, pp. 257-264.
134. Vakil NB, Shaker R, Johnson DA, Kovacs T, Baerg RD, Hwang C, D'Amico D, Hamelin B. The new proton pump inhibitor esomeprazole is effective as a maintenance therapy in GERD patients with healed erosive oesophagitis: a 6-month, randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety // *Aliment Pharmacol Ther*, 2001, No. 15, pp. 927-935.
135. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R, and the Global Consensus Group. The Montreal Definition and Classification of GERD // *Am J Gastroenterol*, 2006, No. 101, pp. 1900-20.
136. Van Hoeij FB, Bredenoord AJ. Clinical Application of Esophageal High-resolution Manometry in the Diagnosis of Esophageal Motility Disorders // *J Neurogastroenterol Motil*, 2016, Vol. 22, No. 1, pp. 6-13.
137. Vesper BJ, Jawdi A, Altman KW, Haines GK, 3rd, Tao L, Radosevich JA. The effect of proton pump inhibitors on the human microbiota // *Curr Drug Metab*, 2009, No. 10, pp. 84–89.
138. Vieth M, Fiocca R, Haringsma J, Delarive PH, Wiesel W, Tam G, Tytgat NJ, Dent J, Edebo A, Lundell L, Stolte M. Radial distribution of dilated intercellular spaces of the esophageal squamous epithelium in patients with reflux disease exhibiting discrete endoscopic lesions // *Dig Dis*, 2004, No. 22, pp. 208-12.
139. Villa N, Vela MF. Impedance-pH testing // *Gastroenterol Clin N Am*, 2013, No. 42, pp. 17-26.

140. von Rosenvinge EC, Song Y, White JR, Maddox C, Blanchard T, Fricke W. Immune status, antibiotic medication and pH are associated with changes in the stomach fluid microbiota // *ISME J*, 2013, Vol. 7, No. 7, pp. 1354–1366.
141. Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, Cole JR. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy // *Appl Environ Microbiol*, 2007, Vol. 73, No. 16, pp. 5261-7.
142. Woese C, Fox G. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms // *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, Vol. 74, No. 11, pp. 5088–90.
143. Woese C, Kandler O, Wheelis M. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya // *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, Vol. 87, No. 12, pp. 4576–9.
144. Wu GD, Lewis JD, Hoffmann C, Chen YY, Knight R, Bittinger K, Hwang J, Chen J, Berkowsky R, Nessel L, Li H, Bushman FD. Sampling and pyrosequencing methods for characterizing bacterial communities in the human gut using 16S sequence tags // *BMC Microbiol*, 2010, No. 10, P. 206.
145. Yamamoto E, S.H. Brito H, K. Ogata S, S. Machado R, Kawakami E. High Rate of Clinical and Endoscopic Relapse After Healing of Erosive Peptic Esophagitis in Children and Adolescents // *PGN*, 2014, Vol. 59, No. 5, pp. 594-599.
146. Yang L, Lu X, Nossa CW, Francois F, Peek RM, Pei Z. Inflammation and intestinal metaplasia of the distal esophagus are associated with alterations in the microbiome // *Gastroenterology*, 2009, No. 137, pp. 588-97.
147. Yang L, Francois F, Pei Z. Molecular pathways: pathogenesis and clinical implications of microbiome alteration in esophagitis and Barrett esophagus // *Clinical Cancer Research*, 2012, No. 18, pp. 2138–44.
148. Zerbib F, des Varannes SB, Roman S. Pouderoux P, Artigue F, Chaput U, Mion F, Caillol F, Verin E, Bommelaer G, Ducrotté P, Galmiche J-P, Sifrim D. Normal values and day-to-day variability of 24-h ambulatory oesophageal impedance-pH monitoring in a Belgian-French cohort of healthy subjects // *Aliment. Pharmacol. Ther*, 2005, No. 22, pp. 1011–1032.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1. Зонд для забора пищеводной и желудочной слизи

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ

№ 179203

ЗОНД ДЛЯ ЗАБОРА ПИЩЕВОДНОЙ И ЖЕЛУДОЧНОЙ
СЛИЗИ

Патентообладатели: *Закрытое акционерное общество "МедСил" (RU), федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2016148249

Приоритет полезной модели 08 декабря 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре полезных

моделей Российской Федерации 03 мая 2018 г.

Срок действия исключительного права

на полезную модель истекает 08 декабря 2026 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Изrael

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11)

179 203⁽¹³⁾ U1(51) МПК
A61M 25/10 (2013.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК
A61M 25/10 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2016148249, 08.12.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.12.2016Дата регистрации:
03.05.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 08.12.2016

(45) Опубликовано: 03.05.2018 Бюл. № 13

Адрес для переписки:

119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2, ФГАОУ
ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова
Минздрава России (Сеченовский университет),
отдел перспективных разработок

(72) Автор(ы):

Бибер Борис Львович (RU),
Мацко Мария Леонидовна (RU),
Ивашкин Владимир Трофимович (RU),
Трухманов Александр Сергеевич (RU),
Румянцева Диана Евгеньевна (RU),
Сторонова Ольга Андреевна (RU),
Параскевова Анна Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Закрытое акционерное общество "МедСил"
(RU),
федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования Первый Московский
государственный медицинский университет
имени И.М.Сеченова Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский университет), ФГАОУ ВО
Первый МГМУ им. И.М.Сеченова
Минздрава России (Сеченовский
университет) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 6958052 B1, 25.10.2005. SU
848037 A1, 23.07.1981. RU 2252041 C1,
20.05.2005. US 2009018500 A1, 15.01.2009.(54) **ЗОНД ДЛЯ ЗАБОРА ПИЩЕВОДНОЙ И ЖЕЛУДОЧНОЙ СЛИЗИ**(57) **Формула полезной модели**

1. Зонд для забора пищеводной и желудочной слизи, содержащий корпус, внутри которого расположены гибкие трубчатые элементы, к корпусу герметично присоединены последовательно расположенные два надувных баллона, причем внутренний канал первого гибкого трубчатого элемента сообщен с верхним надувным баллоном, внутренний канал второго гибкого трубчатого элемента - с нижним надувным баллоном, расположенным ниже первого баллона, а внутренние каналы остальных гибких трубчатых элементов сообщены с внешней средой через отверстия в стенке корпуса, отличающийся тем, что

Приложение 3. Индивидуальная регистрационная карта пациента

1) ФИО пациента					
2) Возраст					
3) Частота симптомов	Нет	1 раз в неделю	2-3 раза в неделю	4-6 раз в неделю	Каждый день
Изжога					
Отрыжка воздухом					
Регургитация					
Дисфагия					
Одинофагия					
Боль за грудиной					
Осиплость голоса					
Кашель					
4) Интенсивность симптомов	Нет	Незначительная (не обращаете внимания, если не напомнят)	Умеренная (беспокоит, но не мешает в повседневной жизни)	Выраженная (иногда мешает в повседневной жизни)	Очень выраженная (часто мешает в повседневной жизни)
Изжога					
Отрыжка воздухом					
Регургитация					
Дисфагия					
Одинофагия					
Боль за грудиной					
Осиплость голоса					
Кашель					
Длительность симптомов	< 1 года	1-5 лет	5-10 лет	>10 лет	
Изжога					
Отрыжка воздухом					
Регургитация					
Дисфагия					
Одинофагия					
Боль за грудиной					
Осиплость голоса					
Кашель					
Купирование изжоги	Самостоятельно	Обволакивающие	ИПП		