

Рис. 1

Динаміка ПЯЖ хворих на жовчокам'яну хворобу, ускладнену мікрохолодохолітазом в залежності від методу корекції ВДС

транспілярним втручанням. В залежності від отриманих результатів електронної поляризаційної мікроскопії протокової жовчі та з метою збереження сфінктерного апарату ВДС, ми розробили диференціальний підхід до вибору метода хірургічного лікування та корекції патології ВДС.

При лікуванні хворих на ЖКХ, ускладнену мікрохолодохолітазом, ми дотримуємося двоетапної тактики лікування. В першу чергу, з метою діагностики мікрохолодохолітаза, виконували ультразвукове дослідження органів панкреатодуоденальної зони, ендоскопічну ретроградну панкреатохолангіографію з подальшим забором протокової жовчі для мікроскопічного дослідження, результати яких дозволяють уточнити причини порушення пасажу жовчі, локалізацію, патологічного процесу, а так само визначити в подальшому тактику лікування.

Другим етапом виконували хірургічне лікування. В залежності від отриманих результатів поляризаційної мікроскопії протокової жовчі, ми виконували ендоскопічні транспілярні втручання з послідуною лапароскопічною холецистектомією. З метою диференційного підходу до вибору метода корекції патології сфінктера Одді та лікування хворих на жовчокам'яну хворобу нами розроблені покази до виконання ендоскопічної балонної дилатації сфінктера Одді: стенозуючий папіліт, явища біліарної гіпертензії, підтверджений мікрохолодохолітаз 1-3 стадії, гострий холангіт, молодий вік, підвищений ризик виникнення кровотечі, довготривалий папіло спазм та до виконання ендоскопічної папілосфінктеротомії у хворих на жовчокам'яну хворобу, ускладнену мікрохолодохолітазом: стенозуючий аденоматозний папіліт, мікрохолодохолітаз 4 стадії, візуально підтверджений мікрохолодохолітаз (наявність мігринних клітин, до 3 мм, рентгеноконтрастних тіней), гострий біліарний панкреатит, гострий холангіт.

При успішній ретроградній канюляції загальної жовчної протоки, підтвердженні наявності мікрохолодохолітазу та його стадії та при наявності патології ВДС виконували ендоскопічну папілосфінктеротомію або часткову папілотомію з подальшою балонною дилатацією ВДС. При вираженому папіліті та при труднощах канюляції спільної жовчної протоки, виконували торцеву папілотомію за допомогою розробленого нами торцевого папілотома (патент України на корисну модель №39759).

ЕПСТ в поєднанні з лапароскопічною холецистектомією була виконана 30 (30%) хворим. Ефективність даного методу підтверджена даними електронної поляризаційної мікроскопії в терміні від 3 до 36 міс. Після проведеного лікування ускладнення відмічались в 3 (10%) випадках з них в 2 випадках відмічались явища шлунково-кишкової кровотечі та в 1 випадку явища гострого панкреатиту. Ендоскопічну балонну дилатацію ВДС виконували рентгеноконтрастним балонним дилатором, який в максимальному роздутому стані не перевищує 8-10 мм, під відеорентгеноконтролем з експозицією на протязі 40-60 сек.

Ендоскопічна балонна дилатація ВДС була виконана 30 (50%) хворим. Ефективність даного методу підтверджена даними електронної поляризаційної мікроскопії в терміні від 3 до 36 міс. Після проведеного лікування ускладнення відмічали в 1 (3,3%) випадку — транзитроне підвищення амілази крові, що розвинулось на тлі супутнього хронічного панкреатиту. Другим етапом в лікуванні даної групи хворих було виконання лапароскопічної холецистектомії. З метою визначення впливу метода корекції патології сфінктера Одді на віддалені результати лікування хворих на жовчокам'яну хворобу, ускладнену

мікрохолодохолітазом, нами було проаналізовано дані 30 пацієнтів, які були отримані за допомогою анкетування.

На основі відомих запитальників SF-36 і опитника для оцінки якості життя хворих з хронічним панкреатитом (ВХП, Багненко С.Ф., 2000), нами був розроблений спеціфічний опитник, адаптований для оцінки якості життя пацієнтів пролікованих із приводу жовчокам'яної хвороби, ускладненої мікрохолодохолітазом. Інтегральний показник якості життя (ПЯЖ) визначається сумою добутків балів на ваговий коефіцієнт відповідного питання. Нормальний рівень ПЯЖ ми визначили після анкетування практично здорових осіб, співставимих по віку та статі, в яких ПЯЖ дорівнював (39,7±2,6) балів. Нормальним показником ПЯЖ нами визначено значення до 50 балів.

Анкетування проводилось на доопераційному етапі та через 6 і 18 та 36 місяців після оперативного лікування. Віддалені результати після оперативного лікування хворих на жовчокам'яну хворобу ускладнену мікрохолодохолітазом, простежені на основі опитника оцінки якості життя в строки від 6 міс до 3 років. 20 хворим проведено амбулаторне обстеження (УЗД, ЕГДС і електронна мікроскопія протокової жовчі). Для оцінки показника якості життя хворих в післяопераційному періоді в обох групах хворих проведено порівняльне дослідження інтегрального показника якості життя (ПЯЖ), результати якого представлені в табл. 1.

Як видно із представленної таблиці, гірші результати з погляду якості життя спостерігались в групі хворих, яким було виконано ендоскопічну папілосфінктеротомію. Вихідний рівень ПЯЖ у них склав 111,4 бала, через 6 місяців після операції знизився до 74,5 балів і після 18 міс зберігався на рівні 67,9 балів і лише після 36 міс ПЯЖ став дорівнювати 59,1 бала, що вказувало на неповноцінну та неповну нормалізацію якості життя.

З розвитком технологій в подібній категорії хворих, ми стали виконувати ендоскопічну балонну дилатацію. Вихідний рівень ПЯЖ у них становив 112,5 балів. Після проведеного хірургічного лікування з корекцією порушень ВДС в більшості хворих наступила нормалізація якості життя. ПЯЖ через 6 місяців склав 62,5 бала, а після 18 міс склав 55,5 балів, через 3 роки ПЯЖ склав 51,3, що відповідало практично повній нормалізації якості життя. В групі пацієнтів, яким було виконано ендоскопічну балонну дилатацію сфінктера Одді відбувалося статистично достовірно, більше рання й більше виражена, ніж у хворих яким було виконано ендоскопічну папілосфінктеротомію, нормалізація значення ПЯЖ, що свідчить про адекватність запропонованих методів (рис. 1).

Проведений аналіз доводить корекцію між нормалізацією стану хворих на жовчокам'яну хворобу, ускладнену мікрохолодохолітазом, та методом корекції сфінктера Одді. Нормалізація параметрів якості життя у хворих, яким було виконано ендоскопічну дозовану балонну дилатацію сфінктера Одді відбувається в більш ранні терміни, що є свідченням медичної та соціальної ефективності даної оперативної тактики.

Висновки

Застосування мініінвазивних хірургічних методів лікування з врахуванням стадії мікрохолодохолітаза та диференційним підходом до вибору метода корекції ВДС призводить до зменшення кількості післяопераційних ускладнень й кращій якості життя хворих у віддаленому періоді.

Впровадження розроблених показів до застосування ендоскопічної папілосфінктеротомії та ендобіліарної балонної дилатації ВДС у хворих на холецистолітаз з підтвердженим мікрохолодохолітазом, призводить до зменшення кількості післяопераційних ускладнень до 3% й значно кращій якості життя пацієнтів у віддаленому періоді

Позитивним моментом використання ендоскопічної дозованої балонної дилатації сфінктера Одді є збереження його функціональної активності.

Література

- Чубенко С.С. (2004) Мікрохолелітаз. Doctor. 3: 23-24
- Ahmed F., Sherman S. (2008) Should patients with biliary type pain after cholecystectomy be evaluated for microolithiasis? Gastrointest Endosc. 68: 75
- Eversman D., Fogel E., Phillips S., Sherman S., Lehman G. (1999) Sphincter of Oddi dysfunction: long-term outcome of biliary sphincterotomy correlated with abnormal biliary and pancreatic sphincters. Gastrointest. Endosc. 49: 3: 78A-B
- Lee J., Park J., Yoon W. et al. (2007) Risk for post-ERCP pancreatitis after needle knife precut sphincterotomy following repeated cannulation attempts. Journal of Clinical Gastroenterology. 41: 4: 427-431
- Liao Wei-Chih, Huang Shih-Pei et al. (2008) Comparison of endoscopic papillary balloon dilatation and sphincterotomy for lithotripsy in difficult sphincterotomy. Journal of Clinical Gastroenterology. 42: 3: 295-299
- Okolo P.L., Pasricha P.J., Kallou A.N. (2000) What are the long-term results of endoscopic pancreatic sphincterotomy? Gastrointest Endosc. 52: 15-19
- Toda N., Saito K., Wada R. et al. (2005) Endoscopic sphincterotomy and papillary balloon dilation for bile duct stones. Hepatogastroenterology. 52: 63: 700-704
- Weinberg B.M., Shindy W., Lo S. (2006) Endoscopic balloon sphincter dilation (sphincteroplasty) versus sphincterotomy for common bile duct stones. Cochrane Database Syst. Rev. 18: 4

ВМІСТ БІЛКІВ ТЕПЛООВОГО ШОКУ HSP70 І HSP90 В ЦИТОЗОЛІ, ЯДРАХ І ЗАГАЛЬНОМУ ЛІЗАТІ КЛІТИН ПУХЛИНИ РАКУ ШЛУНКА ЛЮДИНИ

Мандрик С.Я., Бурій О.М., Бобик В.І., Сидорик Л.І., Остапченко Л.І., Терешкевич І.С.

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Україна
 Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ
 Національний інститут хірургії і трансплантології ім. О.О. Шалімова, Київ, Україна

Вступ

У регенерації слизової оболонки шлунка і, загалом, шлунково-кишкового тракту (ШКТ) задіяні багато білків. Складність точного визначення ролі кожного з них визначається взаємодією процесів проліферації, диференціації, апоптозу і некрозу клітин у слизовій. Більше того, в умовах різноманітних захворювань шлунка і кишківника важливу роль починають відігравати запальні процеси, а також процеси міграції клітин, які беруть участь у заміщенні пошкоджених клітин слизової. На внутрішньоклітинному рівні це супроводжується денатурацією і деградацією існуючих та біосинтезом і фолдингом нових білків клітин. Участь білків теплового шоку в цих процесах є ключовою [1-4,10,13].

На сьогоднішній день відомо багато механізмів цитопротекції тканин шлунка. Очевидно, що участь білків теплового шоку у процесах фолдингу новосинтезованих і рефолдингу пошкоджених поліпептидів і визначає одну з основних ролей даної групи білків у процесах проліферації і апоптозу клітин і, загалом, у процесах відновлення пошкодженої тканини чи органу. Так, експериментально також було підтверджено участь білків теплового шоку у адаптивній цитопротекції в шлунково-кишковому тракті [5,11,12,15,16]. Слід зазначити, що експериментально підтверджено участь білків теплового шоку родин Hsp60, Hsp40, Hsp70, Hsp90 і малих білків теплового шоку у цитопро-

текції і, загалом, підтриманні гомеостазу тканин шлунка і кишківника [15,18-20, 22-28].

Відомо, що рівні експресії основних родин шаперонів в клітинах травного тракту підвищуються в стресових умовах. Так, в культурах клітин шлунка пероксид волно, діамід і етанол підвищували рівні експресії білків теплового шоку Hsp60, Hsp72, Hsp73, Hsp90, Hsp110 і Hsp150 [18-20,23]. Це вказує на ключову роль цих білків у захисті клітин шлунка. Денатуровані білки, або білки з неправильно сформованою просторовою конформацією, яка не забезпечує виконання біологічних функцій, в клітинах як про-, так і еукаріот піддаються протеолізу. Проте, слід зазначити, що зворотню денатуровані білки можуть повторно проходити процес рефолдингу за участю допоміжних факторів, зокрема, молекулярних шаперонів. "Неправильне" формування просторової конформації синтезованих *de novo* поліпептидів може бути наслідком посттрансляційних модифікацій білка (відбувається в нейронах при захворюванні Альцгеймера), або ж мутаційних змін в ДНК, які призводять до порушення амінокислотної послідовності (при захворюванні Хантінгтона) [2,13]. Відомо, що однією з причин онкотрансформації клітин можуть бути мутації окремих білків і, відповідно, їх неправильний фолдинг і зміна, або втрата їх біологічних функцій.

Як зазначалося, ряд білків теплового шоку можуть блокувати окремі ланки запуску апоптозу. Це може вказувати на важливу роль шаперонів у молекулярних механізмах

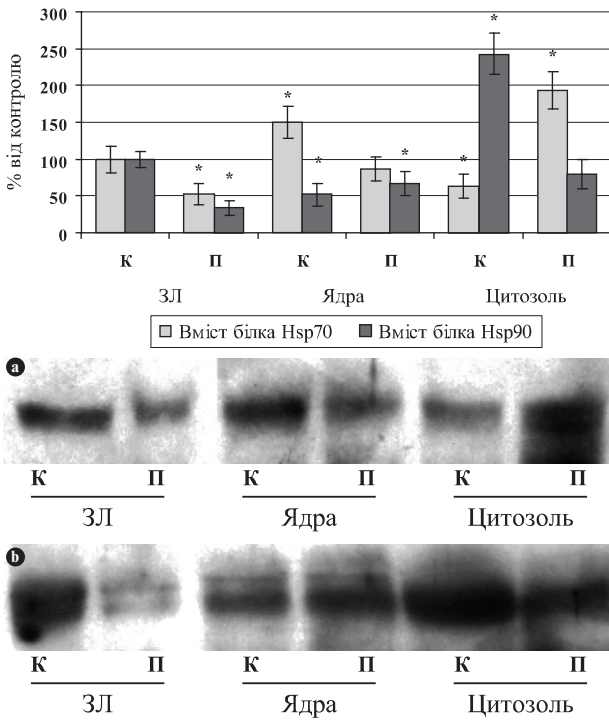


Рис. 1

Вміст білків Hsp70 (а) і Hsp90 (б) в загальному лізаті (ЗЛ), ядрах і цитозолі клітин нормальної слизової оболонки (К) і пухлинні раку шлунка людини (П). Фракціонування клітин здійснювали у присутності 1% додецилсульфату натрію ($M \pm m$, $n=5$).

* значення статистично достовірно відрізняються від контрольних показників з $p < 0,05$.

канцерогенезу, оскільки підвищена експресія генів шаперонів може збільшувати канцерогенні властивості ракових клітин. Відомо, що ракові клітини характеризуються рядом ознак: продукція власних і незалежність від екзогенних сигналів росту; стійкість до дії інгібіторів росту; пригнічення апоптозу; необмежена реплікація; забезпечення ангиогенезу; здатність утворювати метастази. Білок Hsp90, як і інші шаперони, відіграють важливу роль в забезпеченні кожної з зазначених ознак ракових клітин [5]. Підвищення експресії генів шаперонів часто вказує на несприятливий прогноз при певних видах раку. Збільшення експресії генів шаперонів в злоякісних клітинах відіграє ключову роль в їх захисті від апоптозу викликаного терапією. Цей механізм може лежати в основі участі шаперонів у розвитку раку і стійкості ракових клітин до терапії. Участь шаперонів у розвитку раку може також залежати від участі цих білків в процесах фолдингу новосинтезованих поліпептидів. Так, при дослідженні розвитку раку на гризунах надекспресія Hsp27 і Hsp70 збільшує швидкість росту пухлин і здатність пухлин метастазувати. Зниження кількості цих білків, або інгібування експресії відповідних генів, навпаки, може призводити до зменшення розмірів пухлин, більше того, може бути причиною повної регресії пухлин (зокрема, у випадку пригнічення експресії Hsp70) [5,9,12,14,26].

В дослідженнях *in vivo* неаденокарцином продемонстровано, що інгібітори Hsp90 пригнічують ріст злоякісних пухлин і, при цьому, майже не впливають на ріст нормальних тканин. На сьогоднішній день інгібітори Hsp90 проходять клінічну перевірку. Один з можливих молекулярних механізмів дії інгібіторів Hsp90 полягає у індукції процесу апоптозу в ракових клітинах [7,9,10].

Дослідження проводилися із застосуванням методу імуногістохімії. У 88% випадків захворювань раком шлунка в тканинах вражених пухлиною спостерігалось суттєве підвищення вмісту Hsp90α. У випадку дослідження тканин слизової оболонки пацієнтів хворих на хронічний гастрит, збільшення вмісту білка Hsp90α спостерігалось у 55% випадків. Було здійснено також порівняння рівнів цього білка в слизовій оболонці шлунка в середній групі пацієнтів з захворюванням на рак шлунка. Виявилось, що в підгрупі пацієнтів на стадії утворення метастаз, у 100% випадків рівні Hsp90α в клітинах пухлини були підвищеними. Тоді, як в пацієнтів на більш ранніх стадіях захворювання (без утворення метастаз), вміст Hsp90α в клітинах карциноми шлунка був порівнянним високим лише у 60% випадків [11-13]. Отримані результати вказують на взаємозв'язок між експресією білка Hsp90 в злоякісних клітинах слизової оболонки шлунка та прогресуванням раку і подальшим утворенням метастаз.

Таким чином, метою дослідження було з'ясувати можливу роль цитоплазматичних білків теплового шоку Hsp70 і Hsp90 в захисті клітин слизової оболонки шлунка за умов розвитку раку шлунка. Завдання роботи полягало в дослідженні вмісту білків теплового шоку Hsp70 і Hsp90 в цитозолі, ядрах і загальному лізаті клітин пухлини раку шлунка людини.

Матеріали та методи

Операційний матеріал

Операційний матеріал хворих раком шлунка люб'язно надано лабораторією досліджень органів травної системи Національного Інституту хірургії і трансплантології ім. акад. О.О. Шалімова АМН України згідно рішення етичної комісії і на основі договору між зазначеним Інститутом та Інститутом молекулярної біології і генетики НАН України, укладеного 25 лютого 2008 року.

Субфракціонування клітин слизової оболонки шлунка

Клітини перед субфракціонуванням гомогенізували в буфері: 50 мМ Трис-НСІ рН 7,5, 0,25 М сахароза, 5 мМ MgCl₂, 1 мМ ДТТ, 1 мМ PMSF, 1% натрію додецилсульфат, коктейль інгібіторів протеаз. Використовували також буфер без 1% натрію додецилсульфату.

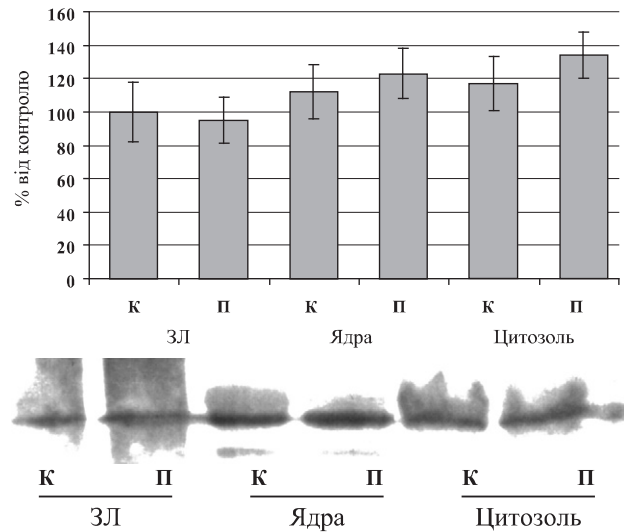


Рис. 2

Вміст білка Hsp90 в загальному лізаті (ЗЛ), ядрах і цитозолі клітин нормальної слизової оболонки (К) і пухлинні раку шлунка людини (П). Фракціонування клітин здійснювали без додецилсульфату натрію ($M \pm m$, $n=5$).

* значення статистично достовірно відрізняються від контрольних показників з $p < 0,05$.

Гомогенізацію здійснювали в гомогенізаторі Поттера при температурі +4°C. Після гомогенізації лізат центрифугували протягом 20 хв за 1000g. Отриманий супернатант центрифугували протягом 20 хв за 4000g. Отриманий осад використовувався для отримання субклітинної фракції збагаченої ядрами. Супернатант центрифугували протягом 20 хв за 10000g. Отриманий осад використовувався для отримання субклітинної фракції збагаченої мітохондріями. Супернатант після останнього центрифугування використовували як цитозольну субфракцію клітин. Осад ядер і мітохондрій після ресуспендування в буфері для фракціонування обробляли ультразвуком протягом 10 секунд при температурі +4°C. Після ультразвукової обробки фракції ядер і мітохондрій центрифугували 20 хв за 13000g.

Визначення концентрації білка за методом Бредфорд

Визначення проводили згідно з методикою та з деякими модифікаціями [7]. Калібрувальну криву будували, використовуючи розчин бичачого сироваткового альбуміну в якості стандарту. Концентрацію білка визначали за калібрувальною кривою. Спектрофотометричні вимірювання при визначенні концентрацій проводили на спектрофотометрі Sre-soll 11.

Електрофоретичний аналіз білків

Електрофорез отриманих зразків проводили у градієнті концентрації ПААГ (7-22%) в денатуруючих умовах за Лемлі [20]. До досліджуваних зразків додавали 1/4 об'єму буфера для зразків (500 мМ Трис НСІ рН 6,8; 2% натрію додецилсульфату; 5% 2-меркаптоетанолу; 0,1% бромфенолового синього). Зразки прогрівали (5 хв, +95°C) і наносили на гелі. Електрофоретичне розділення проводили в трис-гліциновому буфері рН 9,2-9,5 при градієнті напруги 5-20 В/см.

Імуноблот-аналіз

Імуноблот-аналіз досліджуваних гомогенатів слизової оболонки шлунка і лізатів культури клітин АГС проводили за відомим методом [6] з незначними модифікаціями. Препаративний електрофорез у градієнті концентрації ПААГ у денатуруючих умовах виконували як описано раніше. Після препаративного електрофорезу гелі відмивали у буфері PBS та здійснювали електроперенесення білків з поліакриламідного гелю на нітроцелюлозну мембрану. Електроперенос здійснювали в камері для електропереносу, у середовищі буферу для електропереносу, який містив 25 мМ Трис, 192 мМ гліцину і 20% метанолу. Електроперенос проводили при 30 V, 12-14 годин з використанням джерела постійного струму ПЕФ-3. Кількісну обробку результатів імуноблотингу здійснювали з використанням комп'ютерної програми TotalLab v1.10.

Поліклональні антитіла проти білків Hsp90 і Hsp60 одержано як описано в [29]. Препарат Hsp90, очищеного з мозку бика, люб'язно надано проф. Кузницьким Я. (Інтернаціональний інститут молекулярної і клітинної біології, Варшава, Польща). Поліклональні антитіла проти DnaK (прокаріотичний аналог еукаріотичного Hsp70) люб'язно надано проф. Пфаннером Н. (Університет м. Фрайбург, Німеччина). З метою контролю нанесення білка нітроцелюлозної мембрани інкубували з поліклональними антитілами проти гліцеральдегідфосатгелікозази.

Статистична обробка результатів

Для статистичної обробки результатів дослідження використовували пакет статистичних програм "Statistica for Windows 5.1". Статистичну обробку результатів здійснювали на основі 3-4 дослідів. Значення $p < 0,05$ розглядали як критерій достовірності різниці.

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз результатів представлених на рис. 1. свідчить про те, що вміст Hsp70 і Hsp90 в загальному клітинному лізаті, отриманому з клітин аденокарциноми шлунка людини, був статистично достовірно нижчим за такий в клітинах умовно нормальної слизової оболонки шлунка. В клітинах нормальної слизової оболонки більша частина шаперону Hsp70 локалізується в ядрах, тоді, як білок Hsp90 зосереджений в основному в цитозолі. Розподіл цих білків у фракціях клітин пухлини відрізняється від норми. Так, в клітинах раку шлунка білок Hsp70 зосереджений в основному в цитозолі, а вміст Hsp90 в ядрах і цитозолі однаковий (рис. 1). Отже, очевидно, що під час онкотрансформації клітин слизової оболонки шлунка відбувається зміна локалізації шаперонів Hsp70 і Hsp90. Слід зазначити, що фракціонування, результати якого представлені на рис. 1, здійснювали у

присутності 1% додецилсульфату натрію (ДСН). Щоб дослідити можливий механізм зміни внутрішньоклітинної локалізації шаперона Hsp90 нами було проведено фракціонування клітин шлунка без додавання додецилсульфату натрію (рис. 2). Аналіз результатів представлених на рис. 2 свідчить про те, що за відсутності ДСН вміст білка Hsp90 у всіх фракціях ракових клітин однаковий і не відрізняється від показників в умовно нормальних клітинах шлунка.

Відомо, що ДСН є сильним детергентом і, відповідно, стабілізує розчинні білків за рахунок зв'язування з гідрофобними ділянками поліпептидів. Отже, на нашу думку один з механізмів перерозподілу білка Hsp90 при онкотрансформації клітин шлунка полягає у збільшенні гідрофобності його молекул і, відповідно, можливою зв'язуванні цього шаперону з клітинними мембранами або з специфічними адапторними молекулами, які і здійснюють внутрішньоклітинний транспорт даного білка.

Таким чином, здійснено дослідження внутрішньоклітинної локалізації цитозольних шаперонів Hsp70 і Hsp90 в пухлини аденокарциноми шлунка. Різниця в розподілі даних шаперонів між ядром і цитозолем може вказувати на те, що їх роль в онкотрансформованих клітинах шлунка може бути іншою в порівнянні з умовно нормальними клітинами слизової. Відомо, що в ракових клітинах активно відбуваються процеси проліферації і, відповідно, процеси біосинтезу білка. Порівняно високий вміст білка Hsp70 в цитозолі клітин аденокарциноми може вказувати на активну участь цього білка в процесах фолдингу поліпептидів, який відбувається на рибосомах. Відомо, що білки родини Hsp70 беруть участь у фолдингу близько 40% поліпептидів, які синтезуються в клітинах еукаріотів [5,21]. Слід зазначити, що згідно даних літератури, рівень експресії шаперонів родин Hsp70 і Hsp90 є високим при багатьох видах раку. Нами ж було показано (рис. 1), що вміст шаперонів Hsp70 і Hsp90 в клітинах аденокарциноми шлунка є достовірно нижчим в порівнянні з умовно нормальними клітинами шлунка, що може відрізнити аденокарциному шлунка від інших типів раку (рис. 1). Проте, як показано на рис. 2, при застосуванні іншого буферу при лізисі клітин рівень білка теплового шоку Hsp90 в ракових клітинах достовірно не відрізняється від умовно нормальних клітин. Це може вказувати на різницю у розподілі даного шаперону між гідрофобною (мембранами) і гідрофільною (зокрема, цитозолем і каріоплазмой) фракціями ракових і умовно нормальних клітин слизової шлунка.

Висновки

В клітинах аденокарциноми шлунка людини рівень цитозольних білків теплового шоку Hsp70 і Hsp90 був значно нижчим в порівнянні з контролем. Виявлено також зміни в локалізації білків Hsp90 і Hsp70 між ядром і цитоплазмой в умовно нормальних і ракових клітинах шлунка.

Література

- Капустян Л.Н., Княмова Р.Г., Гришкова В.С., Терентьев А.Г., Филоненко В.В., Сидорик Л.Л. (2006) Получение рекомбинантного шаперона GroEL и его иммунологическая кросс-реактивность с Hsp60. Биол. Клетка. 2; 22: 117-120

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО ПИЛОРОДУОДЕНАЛЬНОГО СТЕНТИРОВАНИЯ

Музыка С.В., Винницкая А.Б., Жигулин А.В.

ЛИСОД, Киев, Украина

Помощь при пилородуоденальном стенозе, который обусловлен нерезектабельной опухолью, должна быть направлена на максимально быстрое восстановление проходимости пищеварительного тракта с минимальной травматичностью. Паллиативное хирургическое лечение таких больных характеризуется медленным восстановлением пассажа, длительным стационарным лечением и не приводит к улучшению качества жизни [1,2]. Целью настоящего исследования является оценка первых результатов эндоскопического пилородуоденального стентирования у инкурабельных больных.

Материалы и методы

Эндоскопическое стентирование предлагали больным с клиникой декомпенсированного стеноза выходного отдела желудка, когда результаты предварительного стадирования указывали на невозможность радикального хирургического лечения. Решение о технической возможности стентирования принимали только после диагностической эзофагогастроэнтероскопии, когда визуализировали просвет полого органа в месте сужения, оценивали его проходимость для достаточного устройства стента. Все вмешательства выполнены после получения письменного осознанного информированного согласия пациента, чему предшествовала беседа с врачом, в ходе которой подробно обсуждали все возможные варианты лечения (открытая хирургическая операция, лапароскопическая операция, эндоскопическое стентирование), их исходы и возможные осложнения.

Все вмешательства выполнены после проведения электрокардиографии, общего анализа крови и коагулограммы. После осмотра пациента, оценки по шкале ASA [3], анестезиологом проводилась внутривенная седация препаратом пропофол. Использовали видеогастроскоп с широким инструментальным каналом и передвижной рентгеновский аппарат. Во всех случаях проводили контрастирование стенозированной участка водорастворимым контрастом, устанавливали рентгенконтрастные метки на уровне проксимального и дистального края сужения. Если эндоскоп не проходил за место сужения, то проводник (струну) в залуковичный отдел двенадцатиперстной кишки проводили под непрерывным рентгенологическим и эндоскопическим контролем, верифицируя канюляцию стеноза водорастворимым контрастом через двухпросветный катетер. Достаточное устройство вводили через инструментальный канал эндоскопа, стент высывбуждали постепенно, следуя инструкции производителя. Через несколько часов пациенту разрешили пить, через сутки выполняли контрольную рентгеноскопию с водорастворимым контрастом, после которой диету постепенно расширяли от жидкой до измельченной пищи. Всем пациентам устанавливали неперекрывающиеся саморасширяющиеся стенты WallFlex (США).

Таблица 1. Характеристика пациенток

Пациент	Пол	Возраст (лет)	Причина стеноза	Длина стента (мм)	Длительность госпитализации (сут)
1	М	58	Аденокарцинома желудка	120	2
2	Ж	59	Карцинома молочной железы с метастазированием в головку поджелудочной железы	120	3
3	М	84	Аденокарцинома желудка	120	2

- Allen A. (2005) Gastrointestinal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin American Journal of Physiology — Cell Physiology. 288: 1-19
- Anathan J., Goldberg A.L., Voellmy R. (1986) Abnormal proteins serve as eukaryotic stress signals and trigger the activation of heat shock genes. Science. 23: 4749-522-524
- Anfinsen C.B. (1973) Principles that govern the folding of protein chains. Science. 181: 223-230
- Beckmann R.P. (1990) Interaction of HSP70 with newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly. Science. 248: 62-65
- Blagosklonny M.V. (2001) Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. Journal of National Cancer Institute. 93: 239-240
- Bollag D.M., Rozycki D.M., Edelstein S.J. (1996) Protein methods. New York. Pp 415
- Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 7: 248-254
- Bose S., Weiki T., Bugli H. et al. (1996) Chaperone function of Hsp90-associated proteins. Science. 274: 5293: 1715-1717
- Ciocca D.R., Calderwood S.K. (2005) Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive and treatment implications. Cell Stress and Chaperones. Vol. 10: 2: 816-103
- Davenport H.W. (1972) The gastric mucosal barrier. Digestion. 5: 3: 162-165
- Jin Shen Guo, Chi Hin Cho, Ji Yao Wang et al. (2002) Expression and immunolocalization of heat shock proteins in the healing of gastric ulcers in rats. Scandinavian Journal of Gastroenterology. 37: 1: 17-22
- Tsuyoshi Noguchi, Shinsuke Takeno, Tomotaka Shibata et al. (2002) Expression of heat shock protein 70 in grossly resected esophageal squamous cell carcinoma. Annual of Thoracic Surgery. 74: 222-226
- Fink A.L. (1999) Chaperone-mediated protein folding. Phys. Rev. 79: 2: 425-449
- Fox J.G. (2007) Inflammation, atrophy, and gastric cancer. Journal of Clinical Investigations. 117: 1: 60-69
- Hartl F.U. (1996) Molecular chaperones in cellular protein folding. Nature. 381: 571-580
- Konturek W., Fischer H., Konturek P.C. et al. (2001) Heat shock protein 70 (HSP70) in gastric adaptation to aspirin in Helicobacter pylori infection. Journal of Physiology and Pharmacology. 52: 1: 153-164
- Cornford A., Dodson A.R., Parsons K.F. et al. (2000) Heat shock protein expression independently predicts clinical outcome in prostate cancer. Cancer Research. 60: 7099-7105
- Heylings J.R., Garner A., Flemstrom G. (1982) The gastric "mucus-bicarbonate" barrier: effect of luminal acid on HC03(-) transport by amphibian fundic mucosa in vitro. Advances in Experimental Medicine and Biology. 144: 183-185
- Keiko Nakamura, Kazuhito Rokutan, Nobuyuki Marui et al. (1991) Induction of heat shock proteins and their implication in protection against ethanol-induced damage in cultured guinea pig gastric mucosal cells. Gastroenterology. 101: 1: 161-166
- Laemmli U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the bacteriophage T4. Nature. 227: 52: 680-685
- Lindquist S. (1986) The heat shock response. Annual Review of Biochemistry. 55: 1151-1191
- Malago J.J. (2002) The heat shock response and cytoprotection of the intestinal epithelium. Cell Stress and Chaperones. 7: 2: 191-199
- Malago J.J., Konink J.F.G., Dijk J.E. (2002) The heat shock response and cytoprotection of the intestinal epithelium. Cell Stress Chapter. 7: 2: 191-199
- Oksala N.K. (2002) Heat-shock preconditioning affects restitution of isolated guinea pig gastric mucosa by an arachidonic acid and protein synthesis dependent mechanism. Scandinavian Journal of Gastroenterology. 37: 12: 1366-1373
- Otaka M. (2006) Role of heat shock proteins (molecular chaperones) in intestinal mucosal protection. Biochemical and Biophysical Research Communications. 348: 1: 1-5
- Rokutan K. (2000) Gastric mucosal protection and cell proliferation. Role of heat shock proteins in gastric mucosal protection. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 15: 12-19
- Rokutan K. (1999) Molecular stress response in the stomach. Nippon Yakurigaku Zasshi. 114: 5: 265-272
- Yoshiki Habu, Takeshi Azuma, Keiko Nakamura et al. (1991) Water immersion stress induces heat shock protein in mouse gastric mucosa. Gastroenterology. 26: 4: 543

Результаты

В 2010 году в ЛИСОД было выполнено три эндоскопических пилородуоденальных стентирования. Характеристика пациентов приведена в таблице 1. Баллонная дилатация до или после установки стента не проводилась. Размер стента определяли непосредственно во время вмешательства по результатам контрастирования участка стеноза. Во всех случаях использовались стенты максимальной длины, что было обусловлено большой протяженностью пораженного участка. У всех пациентов был достигнут клинический эффект — восстановление перорального питания. Период наблюдения составил от 3 до 7 месяцев. Осложнения наблюдали в одном случае: периодические боли на протяжении 7 дней, которые купировались приемом нестероидных противовоспалительных препаратов.

Обсуждение

В нашем случае стентирование оказалось успешным во всех случаях, что, учитывая малое число наблюдений, пока не позволяет делать выводы о какой-либо закономерности. Анализ результатов исследования эффективности пилородуоденального стентирования был проведен в 2004 году [4] на материале 606 пациентов или 32 публикаций (от 3 до 63 наблюдений в каждой). Установка стента оказалась успешной в 97% случаев, клинический эффект наблюдали у 89% пациентов. В одном из последних рандомизированных исследований получены схожие результаты: 98% и 84% соответственно [5]. Авторы подчеркивают необходимость пилородуоденального стентирования неперекрывающимися стентами, что позволяет снизить частоту миграции стента до 2%, но в 12% возникает обструкция опухолью или грануляционной тканью. Мы не наблюдали данного осложнения, однако известно, что одним из эффективных методов его лечения является повторное стентирование. Кроме миграции, стентирование может приводить к развитию кровотечения, перфорации и болевому синдрому [4], который мы наблюдали у нашего пациента. Боль в первые несколько суток после стентирования обусловлена высокой радиальной расширяющей силой саморасширяющегося эндопротега.

Таким образом, эндоскопическое стентирование является эффективным и малоинвазивным методом лечения пациентов со стенозом выходного отдела желудка. Выбор метода лечения должен проводиться с учетом возраста, сопутствующих заболеваний, ожидаемой продолжительности жизни и предпочтений пациента.

Литература

- Fiori E., Lamazza A., Volpino P. (2004) Palliative management of malignant antro-pyloric strictures. Gastroenterology with endoscopic stenting: a randomized prospective trial. Anticancer Research. 24: 269-272
- Johnsson E., Thune A., Liedman B. (2004) Palliation of malignant gastroduodenal obstruction with open surgical bypass or endoscopic stenting: clinical outcome and health economic evaluation. World J. Surg. 28: 812-817
- Keats A.S. (1978) The ASA classification of physical status — a recapitulation. Anesthesiology. 49: 233-236
- Dormann A., Meisner S., Verin N. et al. (2004) Self-expanding metal stents for gastroduodenal malignancies: systematic review of their clinical effectiveness. Endoscopy. 36: 543-550
- Van Hooft J.E., Uitehaag M.J., Bruno M.J. et al. (2009) Efficacy and safety of the new WallFlex enteral stent in palliative treatment of malignant gastric outlet obstruction (DUOFLEX study): a prospective multicenter study. Gastrointest. Endosc. 69: 1059-1066