

## КОЛЛАГЕН IV ТИПА В ВЫЯВЛЕНИИ ЭРОЗИВНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПИЩЕВОДА У ПАЦИЕНТОВ С ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Ю. Я. Шелкович (lazarilin@mail.ru), В. И. Шишко (vshyshko@mail.ru),  
А. В. Копыцкий (andrey\_cop@mail.ru)

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

*Введение.* Поиск биомаркеров эрозивного поражения пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ) представляет собой научный и клинический интерес.

*Цель исследования* – оценить содержание коллагена IV типа в плазме крови пациентов с ГЭРБ в зависимости от характера поражения слизистой оболочки пищевода.

*Материалы и методы.* Обследованы 90 пациентов, из которых 64 человека – с ГЭРБ, 26 человек – группа сравнения. Пациентам выполнялась эзофагогастродуоденоскопия с биопсией нижней трети пищевода, у 51 человека выполнено определение коллагена IV типа в плазме крови методом иммуноферментного анализа. С целью определения порогового уровня коллагена IV типа, указывающего на наличие эрозивного поражения пищевода у пациентов с ГЭРБ, была построена математическая модель и выполнен ROC-анализ.

*Результаты.* Пациенты с эрозивной ГЭРБ характеризуются более высокими показателями концентрации коллагена IV типа в плазме крови при сопоставлении с пациентами с неэрозивной ГЭРБ и группой сравнения. Согласно уравнению логистической регрессии и ROC-анализу, пациенты с плазменной концентрацией коллагена IV типа, равной или выше 6,08 нг/мл, имеют эрозивный эзофагит с чувствительностью 90,91%, специфичностью 92,31%, точностью 91,89%.

*Заключение.* Коллаген IV типа может рассматриваться в качестве биомаркера эрозивного поражения пищевода при ГЭРБ. Плазменный может указывать на наличие эрозивного поражения пищевода у пациента с ГЭРБ.

**Ключевые слова:** гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, коллаген IV типа, эрозивное поражение пищевода, биомаркер, желудочно-кишечный тракт.

*Для цитирования:* Шелкович, Ю. Я. Коллаген IV типа в выявлении эрозивного поражения пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ сна / Ю. Я. Шелкович, В. И. Шишко, А. В. Копыцкий // Гепатология и Гастроэнтерология. 2019. Т. 3, № 1. С. 66-70. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2019-3-1-66-70>

## COLLAGEN TYPE IV IN THE DETECTION OF THE EROSIIVE ESOPHAGEAL DAMAGE IN PATIENTS WITH GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE

Y. Shaukovich, V. Shyshko, A. Kapyski

Educational institution «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

*Background.* Searching for biomarkers of erosive esophageal damage in patients with gastroesophageal reflux disease (GERD) seems to have scientific and clinical significance.

*The objective of the study* was to evaluate plasma collagen type IV levels in patients with GERD according to the nature of esophageal mucosa damage.

*Materials and methods.* 90 patients have been examined: 64 with GERD, 26 of the control group. Esophagogastroduodenoscopy with biopsy of the lower third of the esophagus was performed. The collagen type IV level was evaluated in 51 patients using enzyme-linked immunosorbent assay. To determine the threshold level of collagen type IV indicating the presence of erosive esophageal damage in patient with GERD mathematical model has been created.

*Results.* Patients with erosive esophageal damage have higher plasma levels of collagen type IV concentration than patients with nonerosive GERD and those of the control group. According to the logistic model and ROC analysis patients with plasma collagen type IV level equal or more than 6,08 ng/ml have a high risk of erosive esophageal damage, accuracy 91,89%, sensitivity 90,91%, specificity 92,31%.

*Conclusion.* Collagen type IV level can be regarded as a biomarker of erosive esophageal damage in patients with GERD. Plasma collagen type IV level equal or more than 6,08 ng/ml indicates the presence of erosive esophageal damage in patient with GERD.

**Keywords:** gastroesophageal reflux disease, collagen type IV, erosive esophageal damage, biomarker, gastrointestinal tract.

*For citation:* Shaukovich YuYa, Shyshko VI, Kapyski A. Collagen type iv in the detection of the erosive esophageal damage in patients with gastroesophageal reflux disease. *Hepatology and Gastroenterology*. 2019;3(1):66-70. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2019-3-1-66-70>

### Введение

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) в настоящее время выходит на лидирующие позиции по распространенности среди патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта. В России распространенность ГЭРБ составляет от 11,6 до 23,6%. В США и Бельгии только ГЭРБ с эзофагитом выявляется в 21-27% популяции, в Японии – в 16,5%, в ряде стран Азии – в 3-6%. Стоит предполагать, что истинный уровень заболеваемости превышает приведенные данные по причине разнообразия клинической симптоматики, низкой обращаемости пациентов за медицинской помощью, высокой частоты рецидивов [1].

Частые рецидивы заболевания – главные причины неблагоприятного течения ГЭРБ и, как результат, развития осложнений. Анализ течения ГЭРБ у пациентов молодого возраста показал, что частота развития рецидивов достигает 61,3%. Несоблюдение рекомендаций, нарушение амбулаторного режима лечения, недостаточная эффективность назначаемых лекарственных средств способствует развитию таких осложнений, как эрозивно-язвенные поражения пищевода, стриктуры, кровотечения, пищевод Барретта и аденокарцинома пищевода (АКП) [2, 3]. Надо сказать, что в настоящее время в мире отмечается рост заболеваемости АКП, а наличие у пациента пищевода Барретта повышает риск развития АКП в 30-40 раз по сравнению с общей популяцией [4, 5].

В ноябре 2017 г. Международной рабочей группой по расстройствам моторики и функций желудочно-кишечного тракта (International Working Group for Disorders of Gastrointestinal Motility and Function) проведена процедура согласования позиции по современным методам исследования пищевода – Лионский консенсус, по итогам которого был разработан алгоритм диагностики ГЭРБ. В широкой клинической практике обоснована постановка диагноза ГЭРБ на основании типичной клинической симптоматики и/или использования опросников (GERDQ, RDQ) при отсутствии симптомов тревоги и при условии положительного эффекта от проводимой эмпирической терапии. Однако оценка жалоб и использование опросников имеют невысокую диагностическую точность (примерно 65-70%) и не могут быть рекомендованы в качестве единственного диагностического инструмента. Эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) с оценкой гистологических изменений в биоптатах пищевода по-прежнему остается ведущим методом в диагностике ГЭРБ. Согласно данным Лионского консенсуса, основные морфологические изменения слизистой оболочки пищевода, развивающиеся при гастроэзофагеальном рефлюксе, – это расширение межклеточных промежутков,

утолщение базального слоя за счет быстрой регенерации, удлинение сосочков, воспалительные изменения слизистой в виде повышения содержания внутриэпителиальных лимфоцитов, эозинофилов, наличие эрозий, язв, признаков некроза [6, 7, 8].

Несмотря на согласование позиции по современным методам диагностики ГЭРБ, актуальным, с научной и клинической точки зрения, представляется поиск новых биомаркеров поражения слизистой пищевода.

В роли такого биомаркера может выступать коллаген IV типа, изучение которого у пациентов с ГЭРБ вполне обосновано, поскольку данная молекула широко представлена в слизистой оболочке и эндотелии сосудов разных отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Ранее в гастроэнтерологии в работе Ахметова Т. В. и др. была показана целесообразность изучения коллагена IV типа в качестве прогностического маркера у пациентов с пищеводом Барретта [9].

**Цель исследования** – оценить содержание коллагена IV типа в плазме крови пациентов с ГЭРБ в зависимости от характера поражения слизистой оболочки пищевода.

### Материалы и методы

Исследование проводилось на базе УЗ «Городская клиническая больница № 2 г. Гродно». Протокол исследования был одобрен этическим комитетом учреждения. Обследованы 90 человек в возрасте от 30 до 60 лет (средний возраст – 45 (32; 55) лет), подписавших добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Из них 64 человека – с ГЭРБ (основная группа) и 26 человек – группа сравнения (пациенты, у которых ГЭРБ не выявлена). Основная группа в последующем была разделена на две подгруппы в зависимости от наличия эрозивного поражения пищевода (пациенты с эрозивной ГЭРБ и с неэрозивной ГЭРБ).

Критерии невключения: хроническая ишемическая болезнь сердца выше II функционального класса стенокардии; недостаточность кровообращения выше IIIA; некоронарогенные заболевания миокарда и поражение клапанов сердца; язва желудка и/или 12-перстной кишки; медикаментозное поражение желудка и 12-перстной кишки; тяжелая эндокринная патология; хронические декомпенсированные заболевания печени, почек, легких; грубая лор-патология (требующая хирургической коррекции); постоянный прием психотропных средств, миорелаксантов, других препаратов, влияющих на тонус нижнего пищеводного сфинктера, отказ от участия в исследовании.

Для клинической оценки жалоб, предъявляемых пациентами со стороны верхних отделов ЖКТ, использовался опросник GERDQ

(gastroesophageal reflux disease questionnaire) [10].

Пациентам выполнялась эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) с забором биопсийного материала из нижней трети пищевода. Оценка степени тяжести рефлюксного эзофагита проводилась с использованием Лос-Анджелесской системы классификации [11]. Морфологическая верификация диагноза осуществлялась с учетом рекомендаций Лионского консенсуса [7, 8].

Концентрация коллагена IV типа в плазме определялась с помощью иммуноферментного анализа (Wuhan Fine Biotech Co., Китай) у 51 человека, из них 11 пациентов с эрозивной ГЭРБ, 26 пациентов с неэрозивной ГЭРБ, 14 пациентов группы сравнения.

Данные обрабатывались непараметрическими методами программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США), лицензионный номер AXXAR207F394425FA-Q, и программы «RStudio 1.1.183» (версия языка «R» – 3.4.3, пакеты: «ROCR», «boot»). При выполнении множественных сравнений использовался критерий Краскела-Уоллиса, сравнение двух независимых групп осуществлялось с помощью теста Манна-Уитни. Различия признавались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Данные приведены в виде медианы, 25 и 75% перцентилей.

### Результаты и обсуждение

Группы пациентов, вошедших в исследование, были сопоставимы между собой по возрасту и полу.

На первом этапе статистического анализа проведено множественное сравнение исследуемых групп с применением критерия Краскела-Уоллиса. Выявлены статистически значимые различия между группами ( $N=21,65$ ,  $p=0,000$ ). Данные приведены в таблице 1.

Пациенты с неэрозивной ГЭРБ имели более высокий уровень концентрации коллагена IV типа в плазме крови при сопоставлении с группой сравнения (4,529 (3,582; 5,204) и 3,681 (2,977; 5,123) нг/мл, соответственно), хотя статистически значимых различий не получено ( $p > 0,05$ ).

Однако при сопоставлении пациентов с эрозивной ГЭРБ с группой сравнения были установлены статистически значимые различия по содержанию коллагена IV типа в плазме крови (табл. 2).

При последующей статистической обработке данных было проведено сравнение между пациентами с эрозивной и неэрозивной ГЭРБ (табл. 3).

Полученные различия в данном случае указывают на то, что коллаген IV типа может рассматриваться в качестве биомаркера эрозивного поражения пищевода у пациентов с ГЭРБ.

Так, действительно, в литературных источниках имеются упоминания о том, что у пациентов с эзофагитом в ряде случаев при проведении электронной микроскопии наблюдалась прерывистость базальных мембран микрососудов, что может быть связано с повреждением эпителия при ГЭРБ [12]. Кроме того, имеются данные, по поводу того, что коллаген IV типа может разрушаться непосредственно при воздействии пепсина, однако, благодаря своей сложной многомерной структуре и многоуровневой упаковке

Таблица 1. – Множественные сравнения исследуемых групп

Показатель	Неэрозивная ГЭРБ, (n=26)	Эрозивная ГЭРБ, (n=11)	Группа сравнения, (n=14)
Концентрация коллагена IV типа в плазме крови, нг/мл	4,529 (3,582; 5,204)	7,329 (6,232; 8,149)*	3,681 (2,977; 5,123)#

Примечание:

\* – статистически значимые различия между пациентами с неэрозивной и эрозивной ГЭРБ,  $p < 0,000$ ;

# – статистически значимые различия между пациентами с эрозивной ГЭРБ и группой сравнения,  $p < 0,000$

Таблица 2. – Концентрация коллагена IV типа в плазме крови лиц с эрозивной ГЭРБ и группы сравнения

Показатель	Пациенты с эрозивной ГЭРБ, (n=11)	Группа сравнения, (n=14)	p-уровень
Концентрация коллагена IV типа в плазме крови, нг/мл	7,329 (6,232; 8,149)	3,681 (2,977; 5,123)	0,000

Таблица 3. – Концентрация коллагена IV типа у пациентов с эрозивной и неэрозивной ГЭРБ

Показатель	Пациенты с эрозивной ГЭРБ, (n=11)	Пациенты с неэрозивной ГЭРБ, (n=26)	p-уровень
Концентрация коллагена IV типа в плазме крови, нг/мл	7,329 (6,232; 8,149)	4,529 (3,582; 5,204)	0,000

ке при повреждении базальной мембраны, коллаген IV типа не разрушается до аминокислот, а расщепляется на фрагменты, которые попадают в кровь и становятся доступными для определения [13].

С целью установления порогового уровня коллагена IV типа, который мог бы указывать на наличие эрозивного поражения пищевода у пациентов с ГЭРБ, построено уравнение логистической регрессии с бинарным откликом и пробит-функцией связи [14]. Для каждого из испытуемых определялись следующие показатели: уровень коллагена IV типа в плазме крови и наличие эрозивной ГЭРБ, что является бинарной переменной, принимающей значение 1 в случае, если эрозивная ГЭРБ не была выявлена, и 2, если данный диагноз установлен.

Так как объёмы выборок пациентов с эрозивной и неэрозивной ГЭРБ различаются, то при построении модели пациентам с эрозивной ГЭРБ придавался вес 2, пациентам с неэрозивной ГЭРБ – 1. В таблице 4 представлены оценки параметров модели:

Как отражено в таблице 6, оценки коэффициентов предикторов статистически значимы, поэтому оба предиктора – свободный член (Intercept) и концентрация коллагена IV типа в плазме крови – включены в модель. Линейный предиктор (пробит) уравнения логистической регрессии, согласно данной модели, будет иметь вид:

$\text{Probit}(p) = -18,615 + 3,085 \cdot \text{концентрация коллагена IV типа}$ .

Принятие решения об отнесении испытуемого к группе 1 или к группе 2 выполняется следующим образом:

если  $\Phi(\text{Probit}(p)) < p_0$ , принимается решение об отнесении испытуемого к группе 1, если  $\Phi(\text{Probit}(p)) \geq p_0$ , принимается решение об отнесении испытуемого к группе 2.

В описанных условиях  $\Phi(\text{Probit}(p))$  – функция нормального стандартного распределения для аргумента  $\text{Probit}(p)$ ,  $p_0$  – порог отсека. Выбор порога отсека определяется значениями чувствительности, специфичности и точности классификации.

Проведен ROC-анализ модели (рис. 2) и построен график зависимости точности классификации от порога отсека (рис. 3).

Таблица 4. – Оценки коэффициентов регрессионной модели

Коэффициент	Оценка	Ст. отклонение	z-значение	pg (> z )
(Intercept)	-18,615	9,770	-1,905	0,05
Коллаген IV	3,085	1,592	1,938	0,05

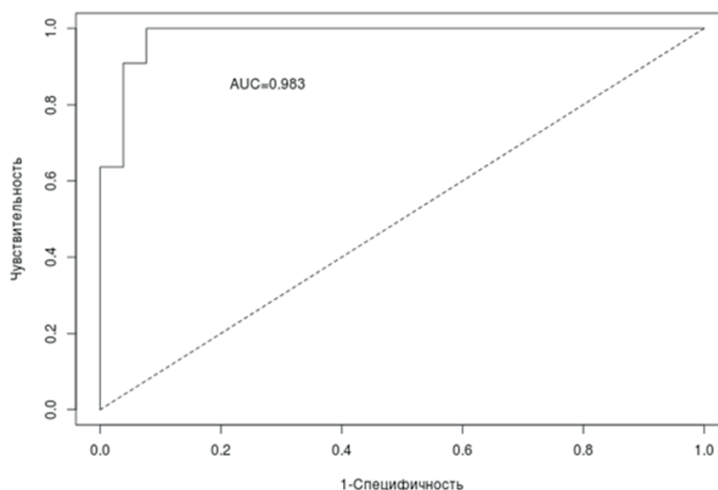


Рисунок 2. – ROC-кривая для модели

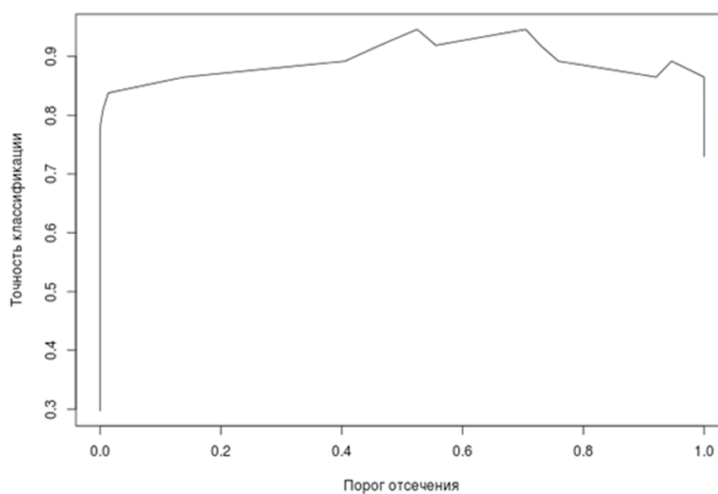


Рисунок 3. – График зависимости точности классификации от порога отсека

Площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,983 (95% ДИ 0,951-1), что свидетельствует о хорошей предсказательной способности построенной модели [15]. В качестве порога отсека выбрана вероятность  $p_0 = 0,5559$ . При данном пороге отсека чувствительность составляет 90,91%, специфичность – 92,31%, точность – 91,89%.

Решение уравнения  $p_0 = \Phi(-18,615 + 3,085 \cdot \text{концентрация коллагена IV типа})$  даёт нам следующее значение порога отсека по уровню кол-



лагена IV: концентрация коллагена IV<sub>o</sub>=6,08 нг/мл.

Таким образом, если концентрация коллагена IV типа в плазме крови для конкретного испытуемого составляет 6,08 нг/мл или более, принимается решение об отнесении испытуемого к группе 2, т. е. к группе с высокой вероятностью эрозивного поражения пищевода.

В аспекте математических допущений полученная модель является адекватной, так как: оценки коэффициентов модели статистически значимы; остаточный девианс модели равен 15,89, в то время как для нуль-модели – 66,21; значение информационного критерия Акаике равно 19,89, для нуль-модели – 68,21. Выполнена также кросс-валидация модели методом скользящего контроля с точностью в качестве

функции цены. Средняя точность предсказания, согласно кросс-валидации, составила 90,36%.

### Выводы

Повышение в плазме крови концентрации коллагена IV типа у пациентов с эрозивным поражением пищевода по сравнению с неэрозивной ГЭРБ указывает на то, что уровень коллагена IV типа может выступать в роли прогностического показателя в выявлении эрозивного поражения пищевода у пациентов с ГЭРБ.

Концентрация коллагена IV типа в плазме крови 6,08 нг/мл и более позволяет прогнозировать наличие эрозивного поражения слизистой оболочки пищевода у пациентов с ГЭРБ с чувствительностью 90,91%, специфичностью 92,31%, точностью 91,89%.

### References

- Balukova EV. Vozможности preparatov vismuta v lechenii gastroezofagealnoj refljusknoj bolezni [Possibilities of bismuth drugs in the treatment of gastroesophageal reflux disease]. *Terapija* [Therapy]. 2017;17(7):102-108. (Russian).
- Vjalov SS, Chorbinskaja SA. Gastroezofagorefljusknaja bolezni (GJeRB): diagnostika, lechenie i profilaktika [Gastroesophageal reflux disease (GERD): diagnosis, treatment and prevention]. Moskva: Izdatelstvo RUDN; 2011. 21 p. (Russian).
- Maev IV, Vjuchnova ES, Lebedeva EG, Dicheva DT, Antonenko OM, Shherbenkov IM. Gastroezofagealnaja refljusknaja bolezni [Gastroesophageal Reflux Disease]. Moskva: VUNCMZ RF; 2017. 17 p. (Russian).
- Gain JM, Demidchik JE. Hirurgicheskie bolezni: simptomy i sindromy [Surgical diseases: symptoms and syndromes]. Vol. 1. Minsk: Belaruskaja nauka; 2013. p. 21. (Russian).
- Mastykova EK, Konorev MR, Matveenko ME. Pishhevod Barretta v strukture gastroezofagealnoj refljusknoj bolezni: sovremennye predstavlenija [Barrett's esophagus in the structure of gastroesophageal reflux disease: current views]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2010;9(4):65-74. (Russian).
- Savarino E, Bredenoord A, Fox M, Pandolfino J, Roman S, Gyawali C. Expert consensus document: Advances in the physiological assessment and diagnosis of GERD. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2017;14(11):665-676. doi: 10.1038/nrgastro.2017.130.
- Savarino E, Bredenoord AJ, Fox M, Pandolfino JE, Roman S, Gyawali CP. Expert consensus document: Advances in the physiological assessment and diagnosis of GERD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(11):665-676.
- Gyawali C, Kahrilas P, Savarino E, Zerbib F, Mion F, Smout A, Vaezi M, Sifrim D, Fox M, Vela M, Tutuian R, Tack J, Bredenoord A, Pandolfino J, Roman S. Modern diagnosis of GERD: the Lyon Consensus. *Gut*. 2018;67(7):1351-1362. doi: 10.1136/gutjnl-2017-314722.
- Ahmetov TV, Petrov SV, Burmistrov MV, Sigal EI, Ivanov AI, Muravev AY. Sovremennaja morfologicheskaja ocenka pishhevoda Barretta i raka pishhevoda [Modern morphological evaluation of Barretts esophagus and esophageal cancer]. *Prakticheskaja medicina* [Practical medicine]. 2008;2(26):6-8. (Russian).
- Kajbysheva VO, Kucherjavjy JuA, Truhmanov AS, Storonova OA, Konkov MJu, Maev IV, Ivashkin VT. Rezultaty mnogocentrovogo nabljudatel'nogo issledovanija po primeneniju mezhdunarodnogo oprosnika GerdQ dlja diagnostiki gastroezofagealnoj refljusknoj bolezni [The results of a multicenter observational study about the use of the GerdQ international questionnaire for the diagnosis of gastroesophageal reflux disease]. *Rossijskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* [Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology]. 2013;23(5):15-23. (Russian).
- Shishko VI, Petrulovich JuJa. Gastroezofagealnaja refljusknaja bolezni: klassifikacija, klinika, diagnostika, principy lechenija (obzor literatury, chast 2) [Gastroesophageal reflux disease: classification, clinic, diagnosis, principles of treatment (literature review, part 2)]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2015;50(2):15-23. (Russian).
- Rafiee P, Ogawa H, Heidemann J, Li MS, Aslam M, Lamirand TH, Fisher PJ, Graewin SJ, Dwinell MB, Johnson CP, Shaker R, Binion DG. Isolation and characterization of human esophageal microvascular endothelial cells: mechanisms of inflammatory activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003;285(6):1277-1292. doi: 10.1152/ajpgi.00484.2002.
- Boudko SP, Danylevych N, Hudson BG, Pedchenko VK. Basement membrane collagen IV: Isolation of functional domains. *Methods Cell Biol*. 2018;143:171-185. doi: 10.1016/bs.mcb.2017.08.010.
- Mastickij SJe, Shitikov VK. Statisticheskij analiz i vizualizacija dannyh s pomoshhju R [Statistical analysis and data visualization with R]. Moskva: DMK; 2015. 496 p. (Russian).
- Pannal P, Marshall W, Jabor A, Magid E. A strategy to promote the rational use of laboratory tests. *Clinica Chimica Acta*. 1996;244:121-127.

Поступила: 07.03.2019

Принята к печати: 28.03.2019