

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

Mirko Tandara

**ULOGA E-CADHERINA U RANOM PREPOZNAVANJU OŠTEĆENJA
SLUZNICE JEDNJAKA U GERB-U**

Diplomski rad

Akadska godina:

2015/2016

Mentor:

doc.dr.sc. Damir Bonacin

Split, veljača 2016.

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

Mirko Tandara

**ULOGA E-CADHERINA U RANOM PREPOZNAVANJU OŠTEĆENJA
SLUZNICE JEDNJAKA U GERB-U**

Diplomski rad

Akadska godina:

2015/2016

Mentor:

doc.dr.sc. Damir Bonacin

Split, veljača 2016.

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. Definicija GERB-a | 2 |
| 1.2. Epidemiologija GERB-a..... | 2 |
| 1.3. Patogeneza GERB-a..... | 4 |
| 1.4. Mehanizmi oštećenja sluznice jednjaka | 5 |
| 1.5. Specifičnosti patogeneze GERB-a | 9 |
| 1.6. Cadherini | 10 |
| 1.7. Klinička slika GERB-a..... | 13 |
| 1.8. Tipični ezofagealni simptomi | 13 |
| 1.9. Atipični (ekstraefozofagealni simptomi) | 14 |
| 1.10. Komplikacije GERB-a | 15 |
| 1.11. Liječenje GERB-a | 15 |
| 2. CILJ ISTRAŽIVANJA | 17 |
| 3. MATERIJAL I METODE | 19 |
| 3.1. Ispitanici | 20 |
| 3.2. Metode..... | 20 |
| 3.3. Upitnik za GERB | 20 |
| 3.4. Antropometrijski pokazatelji | 22 |
| 3.5. EKG..... | 22 |
| 3.6. Ezofagogastroduodenoskopija | 22 |
| 3.7. Biopsija sluznice jednjaka | 22 |
| 3.8. Patohistološka dijagnostika | 22 |
| 3.9. Statistička analiza..... | 22 |
| 4. REZULTATI | 24 |
| 5. RASPRAVA | 28 |
| 6. ZAKLJUČCI | 31 |

| | |
|----------------------------|----|
| 7. LITERATURA | 33 |
| 8. SAŽETAK | 39 |
| 9. SUMMARY | 41 |
| 10. ŽIVOTOPIS | 43 |

Zahvala

Od srca zahvaljujem doc.dr.sc. Damiru Bonacinu na strpljivosti i ukazanom povjerenju, te obitelji i prijateljima koji su nesebično bili uz mene pri ostvarenju još jednog važnog koraka u mom životu.

1. UVOD

Gastroezofagealna refluksna bolest (GERB) je čest poremećaj praćen različitim simptomima i znakovima, no tzv. tipični simptomi su žgaravica i regurgitacija. Šarenilu simptoma doprinosi oštećenje tzv. ekstraesofagealnih ili supraesofagealnih struktura (usna šupljina, uho, grkljan, pluća), pa se simptome i znakove proizašle iz tih oštećenja, o kojima se međutim nerijetko ne razmišlja, naziva supraesofagealnim ili ekstraesofagealnim manifestacijama GERB-a. Naime, kod ekstraesofagealnoga refluksa (EER) klasični simptomi GERB-a često izostanu, pa time i sumnja kliničara, što u konačnici otežava postavljanje dijagnoze.

1.1. Definicija GERB-a

GERB je kronično patološko stanje koje se može razviti zbog refluksa gastroduodenalnog sadržaja u jednjak, usta i dišne putove, s različitim simptomima i znakovima bolesti. Simptomi i znakovi GERB-a su varijabilni, različite jačine i nisu uvijek povezani s oštećenjem sluznice jednjaka. Upravo na temelju procjene promjena sluznice jednjaka GERB se dijeli na endoskopski pozitivan ili erozivni oblik bolesti (ERB) i endoskopski negativan ili neerozivni oblik (NERB). Dijagnoza bolesti se može postaviti ukoliko se tipični simptomi bolesti pojavljuju iz tjedna u tjedan najmanje dva puta tjedno ili kada je oštećenje jednjaka vidljivo endoskopski. Nezavisno o endoskopskom obliku bolesti, subjektivne smetnje često smanjuju kvalitetu života oboljelih (1,2).

1.2. Epidemiologija GERB-a

GERB je jedna od najčešćih bolesti gastrointestinalnoga sustava. Podatci o učestalosti bolesti su više rezultat procjena nego stvarnih pokazatelja, a uzrok tomu je neprimjerenost stvarnih podataka zbog nedorečenosti dijagnostičkih mjerila i zbog čestih pokušaja samoliječenja. Početkom XX. stoljeća GERB je bio gotovo nepoznat, no napretkom civilizacije, promjenama načina i stila života, bolest, na temelju danas dostupnih podataka, u zapadnom svijetu poprima gotovo epidemijske razmjere, dok je istovremeno učestalost u nerazvijenim zemljama manja (3). Epidemiološke različitosti nastaju zbog nasljednih, okolišnih i društveno-gospodarskih čimbenika. Dva veća istraživanja bavila su se učestalošću

GERB-a. Jedno je provedeno u Velikoj Britaniji i spominje se učestalost GERB-a na godišnjoj razini od 4,5 na 1000 stanovnika, a drugo, u Sjevernoj Americi, od 5,4 na 1000 stanovnika (4). Iako, protivno očekivanjima, istraživanja nisu potvrdila veću učestalost GERB-a među starijima, uočena je, međutim, u toj skupini veća učestalost komplikacija (npr. ulkusi i strikture) (5,6). Nasuprot tomu, među mladima, istraživanja navode sklonost razvoju burnije kliničke slike. Blaži oblici bolesti zabilježeni su među ženama, dok muškarci pokazuju sklonost razvitku ozbiljnijih komplikacija poput Barrettovog jednjaka (7). Važnost nasljednih čimbenika za nastanak GERB-a još nije do kraja razjašnjena. Uočena je veća učestalost GERB-a među jednojajčanim blizancima nego među dvojajčanim, kao i uloga nasljednih faktora u nastanku Barrettovog jednjaka, adenokarcinoma jednjaka i kardije (8). Epidemiološka istraživanja navode obrnuti odnos *Helicobacter pylori* infekcije i GERB-a. Naime, protektivna uloga *H. pylori* u nastanku GERB-a posljedica je smanjene sposobnosti izlučivanja želudčane kiseline i njezine pojačane neutralizacije; nasuprot tomu, kod bolesnika bez *H. pylori* infekcije, izlučivanje želudčane kiseline bit će povećano, pa je i mogućnost razvoja GERB-a veća. Na temelju navedenog, budući da je u dobro razvijenim zemljama proširenost infekcije *H. pylori* manja, smatramo to jednim od objašnjenja veće učestalosti GERB-a u razvijenim zemljama (3,9).

Rizični faktori i stanja koja mogu povećati rizik nastanka GERB-a:

- 1) Hijatalna hernija
- 2) Trudnoća
- 3) Pušenje
- 4) Smanjena salivacija
- 5) Astma
- 6) Šećerna bolest
- 7) Odgođeno pražnjenje želudca
- 8) Bolesti vezivnoga tkiva, npr. sklerodermija
- 9) Pretilost (10).

Utjecaj debljine na razvoj GERB-a nije do kraja razjašnjen. Nakon osjetnog smanjenja tjelesne težine kod nekih su bolesnika simptomi nestali, a kod nekih, unatoč tomu, nisu (5,11). Izraženiji simptomi refluksa kod pretilih žena nego kod pretilih muškaraca,

objašnjavaju se povećanim utjecajem estrogena. Većina bolesnika s GERB-om ima hijatalnu kilu čija je veličina proporcionalna stupnju ezofagitisa, a moguće je da je i Barrettov jednjak učestaliji kod bolesnika s hijatalnom kilom (12). Unatoč navedenom, epidemiološki podatci su manjkavi i nepotpuni uglavnom zbog nejasne definicije bolesti, osobito njenog neerozivnog oblika, koji se nalazi kod 70% oboljelih.

1.3. Patogeneza GERB-a

Patogeneza GERB-a je rezultat neravnoteže mehanizama obrane jednjaka (antirefluksna brana, klirens jednjaka, tkivna otpornost) i agresivnih sastojaka u refluksatu (želudčana kiselina, duodenalni sadržaj). Kod distalnog refluksa, posljedice su ograničene samo na jednjak, a kod proksimalnog refluksa posljedice se javljaju i na ekstraezofagealnim strukturama (13).

Tablica 1. Čimbenici važni u patogenezi GERB-a

| | |
|--|---|
| Primarna hipotonija donjeg sfinktera jednjaka (DSJ) | Povećanje želučanog tlaka zbog stresa |
| Sekundarna hipotonija DSJ | - kašalj, primjena steznika, tjelovježba, Valsalvin postupak |
| Fiziološki čimbenici: - trudnoća - lijekovi - povraćanje Patološki čimbenici: - sklerodermija | Prolazno opuštanje DSJ |
| | Primarni poremećaji peristaltike |
| | Sekundarni poremećaji peristaltike |
| | - stanje nakon miotomije zbog ahalazije - hipotiroidizam - amiloidoza |

| | |
|----------------------------------|---|
| - hijatalna kila | - intestinalna pseudoopstrukcija |
| - intestinalna pseudoopstrukcija | - sklerodermija |
| - hipotiroidizam | Smanjeno lučenje bikarbonata sline |
| - šećerna bolest | Smanjena otpornost sluznice jednjaka |
| - amiloidoza | |

1.4. Mehanizmi oštećenja sluznice jednjaka

Jednjak je zatvorena mišićna cijev, duga 18 do 26 cm, koja se otvara kada u njega ulazi hrana, a daljnji prolazak hrane u želudac omogućen je primarnim peristaltičkim kontrakcijama. Gornji sfinkter jednjaka leži uz stražnju stijenku grkljana. Jednjak uz traheju ulazi u prsište, oslanjajući se na stražnju stijenku traheje, a završava donjim sfinkterom jednjaka (DSJ) – glatkim, cirkularnim mišićem koji obavlja distalni dio jednjaka i sastavni je dio antirefluksne brane. Nakon gutanja DSJ se relaksira i tako omogućava da sadržaj uđe u želudac, a nakon toga se opet zatvara. Međutim, ako je ovaj sfinkter prekomjerno relaksiran ili oslabljen dolazi do povrata želudčanog sadržaja i/ili žuči u jednjak. Učestala regurgitacija sadržaja oštećuje sluznicu jednjaka uzrokujući njenu upalu – *ezofagitis*, a ako dovoljno dugo potraje i brojne komplikacije poput krvarenja, striktura i *Barrettovog* jednjaka (14).

Za patogenezu GERB-a vrlo je važna uloga obrambenih mehanizama, koje čine:

- 1) Antirefluksna brana
- 2) Klirens jednjaka
- 3) Tkivna otpornost

Antirefluksna brana je prva crta obrane jednjaka od agresivnog želudčanog sadržaja. Složena je struktura i sastoji se od DSJ, intraabdominalnog dijela jednjaka, desnog kraka ošita, frenoezofagealne sveze i oštrog Hissovog kuta (1,15-17). Poremećaj antirefluksne brane može biti posljedica prirođenih slabosti, akutne ozljede prsnog koša i trbuha, ali i kronične ozljede (npr. kod nošenja uske odjeće, dugotrajnog pognutog položaja tijela i slično). Za

nastanak GERB-a ipak je najbitniji poremećaj funkcije DSJ (15.). DSJ je glatki mišić koji zauzima 3 do 4 cm distalnog dijela jednjaka i po građi se ne razlikuje od ostalog dijela jednjaka, a funkcionalno čini najvažniji dio antirefluksne brane. Proksimalna granica DSJ je 1.5 do 2 cm iznad Z crte (mjesto dodira pločastog epitela jednjaka i cilindričnog epitela želuca), a distalna granica je oko 2 cm ispod Z crte.

Temeljni tlak sfinktera je 10 - 30 mmHg. Tlak potreban za sprječavanje refluksa u normalnim uvjetima je 5 do 10 mmHg, što nam govori kako DSJ ima veliku pričuvenu snagu. DSJ intrinzičnim tonusom mišića i podražajem kolinergičnih živčanih okrajina održava tlak visokim no s dnevnim otklonom, pa je tlak najniži nakon obroka, a najveći noću.

Rad DSJ pod utjecajem je intrinzičnog tonusa sfinktera, enteričkog živčanog sustava, središnjeg živčanog sustava i cirkulirajućih humoralnih posrednika. Poremećaj miogenih i neuralnih mehanizama dovodi do neodgovarajućeg tonusa sfinktera s posljedičnim gastroezofagealnim refluksom (18).

Krak ošita izvanjskim stezanjem pomaže povećanju bazalnog tonusa donjeg sfinktera jednjaka pri udahu i povećava tonus sfinktera za vrijeme porasta intraabdominalnog tlaka (npr. kašlja).

DSJ se sa svakim gutanjem pomiče za oko 2 cm i pritom se skraćuje frenoezofagealna sveza, a njene elastične niti, nakon gutanja vraćaju sfinkter i Z crtu u uobičajeni položaj. Zbog kosog ulaska jednjaka u želudac, gastroezofagealni spoj na strani velike želučane krivine oblikuje oštar, tzv. Hissov kut. On djeluje kao valvula i tako doprinosi učinkovitosti gastroezofagealnog spoja.

Prema patogenezi, stanja koja utječu na učinkovitost DSJ, mogu se podijeliti u tri skupine:

- 1) Stanja koja povećavaju transdijafragmalnu razliku tlaka (plućne bolesti, npr. astma)
- 2) Stanja koja povećavaju intraabdominalni tlak (npr. trudnoća, ascites, debljina)
- 3) Stanja koja utječu na rad mišića jednjaka (npr. sklerodermija, lijekovi, primarne miopatije itd.)

Među bolesnicima oboljelim od GERB-a, pronađeno je više različitih poremećaja DSJ, kao npr. oslabljena kontraktilnost ili hipotonija sfinktera. Refluks nastaje kada se zbog naglog povećanja intraabdominalnog tlaka pri kašljanju, kihanju ili slično otvori hipotoničan

DSJ pa sadržaj iz želuca uđe u jednjak. Refluks je zbog hipotoničnog DSJ rijedak i uglavnom se vidi kod bolesnika s teškom upalom sluznice jednjaka. Mehanizam koji utječe na smanjeni tonus nije jasan. 5% do 10% epizoda refluksa nastaje zbog opuštanja DSJ za vrijeme gutanja, a većina njih je posljedica oštećene ili nepotpune peristaltike. Tijekom normalnog gutanja dolazi do fiziološkog opuštanja ili relaksacije DSJ. Krak ošita se ne opušta, pa je opuštanje sfinktera veoma kratko (5 do 10 sekundi) što rijetko dovodi do refluksa, dodir kiseline sa sluznicom jednjaka je kratkotrajan i ne uzrokuje oštećenje sluznice. Ta vrsta poremećaja rada DSJ najčešća je kod bolesnika s hijatalnom hernijom (18,19).

Prolazno opuštanje (tranzitorna relaksacija) DSJ najčešći je mehanizam nastanka refluksa kod osoba s normalnim tlakom sfinktera, a nastaje najčešće poslije obroka i noću. Prolazno opuštanje DSJ, za razliku od fiziološkog, nije uzrokovano primarnom peristaltikom, ne ovisi o gutanju i traje više od 10 sekundi, obično od 30 do 60 sekundi. Ono nije uvijek povezano s refluksom i izgleda da ga izaziva rastezanje proksimalnog dijela želuca hranom ili zrakom. Mogu ga uzrokovati masni obrok, alkohol, pušenje, stres i lijekovi. Opuštanje DSJ kontrolira *n. vagus*. Širenje kardije želuca uzrokuje aferentni impuls koji se šalje u mozak, koji nakon obrade informacija šalje eferentni motorički signal koji uzrokuje opuštanje DSJ, inhibiciju kraka ošita i sekundarnu peristaltiku jednjaka (19).

Hijatalna hernija češće nastaje u bolesnika s refluksnim ezofagitisom nego kod zdrave populacije. Ona uzrokuje dislokaciju i protruziju gastroezofagealnog spoja u prsište. Kod većih hijatalnih hernija, češće nalazimo prolazno opuštanje DSJ, no hijatalna hernija nije uvijek povezana s refluksnom bolesti (19-21).

Odstranjivanje (klirens) kiseline iz jednjaka je druga crta obrane jednjaka od oštećenja. Ona se sastoji od:

1. Volumnog klirensa – odstranjenje refluksata iz jednjaka
2. Klirensa kiseline – obnavljanje normalnog pH jednjaka titracijom bazama iz sline i izlučevinama žlijezda jednjaka.

Primarnu peristaltiku pokreće gutanje i ona otklanja oko 15 ml tekućeg bolusa iz jednjaka, dok sekundarna nastaje zbog rastezanja jednjaka kiselim refluksatom i manje je učinkovita (16-22). Poremećaj peristaltike je učestaliji što je ezofagitis teži. Poremećaji peristaltike koji prate aktivni ezofagitis su povratni, no razvojem striktura i ožiljnih promjena ti poremećaji postaju nepovratni.

Slina je važna za neutralizaciju kiseline dospjele u jednjak, a njen pH je 6,4 – 7,8. Veoma je učinkovita u neutralizaciji manjih količina kiseline, a smanjenje salivacije, osobito duljeg trajanja (npr. za vrijeme sna), pogoduje nastanku refluksa, koji se zbog navedenog često javljaju tijekom noći. Kserostomija i nikotin uzrokuju refluks istim mehanizmom.

Submukozne žlijezde jednjaka luče vodenast sadržaj bogat bikarbonatima i također pomažu uspostavljanju normalnog klirensa kiseline (18,20).

Tkivna otpornost (rezistencija) se sastoji od preepitelne, epitelne i postepitelne obrane, a najviše ovisi o cjelovitosti epitela. Sastoji se od strukturalne i funkcionalne sastavnice.

Strukturalna sastavnica se sastoji od stanične membrane i međustaničnih sveza. Epitel je višeslojni pločasti i sastoji se od 25 do 30 redova stanica raspoređenih u 3 sloja, tj. bazalni, srednji i vršni. Kiselina ugrožava epitelnu obranu razaranjem međustaničnih sveza i tako omogućava prodor vodikovih iona i zakiseljavanje međustaničja. Međustanični prostori se šire, a kad se iscrpi puferaska sposobnost međustaničnog prostora dolazi do zakiseljavanja citosola.

Funkcionalna sastavnica epitelne obrane jednjaka uključuje puferiranje i izbacivanje vodikovih iona pomoću Na^+H^+ izmjenjivača i učinak o Na^+ zavisnog $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ izmjenjivača. Proširenje međustaničnih prostora mogao bi biti prvi znak staničnog oštećenja izazvanog kiselinom i/ili duodenalnim sadržajem. Uporabom inhibitora protonske crpke u trajanju od 3 do 6 mjeseci smanjuje se lučenje kiseline što vodi povlačenju proširenja međustaničnih prostora (16,17,19-22).

Glavni čimbenik postepitelijske obrane je dobra prokrvljenost sluznice s primjerenim dotokom kisika i hranjivih tvari kao i odstranjivanjem štetnih metaboličkih proizvoda. Važni želučani čimbenici za razvoj refluksnog ezofagitisa su stvaranje želučane kiseline i pepsina. Kiselina je važniji čimbenik, jer aktivirani pepsin, sam po sebi, neće izazvati oštećenje jednjaka ako je pH veći od 4. Refluks duodenogastričnog sadržaja zbog sadržaja konjugiranih i nekonjugiranih žučnih kiselina i tripsina dodatno povećava štetnost refluksata, te potiče razvoj i/ili pogoršavanje GERB-a. Kod 20% bolesnika s GERB-om prisutno je usporeno pražnjenje želuca, što povećava vjerojatnost pojave refluksa (18).

1.5. Specifičnosti patogeneze NERB-a

Nedavne studije su dale širi uvid u patofiziologiju i simptome NERB-a. NERB je stanje obilježeno tipičnim refluksnim simptomima, no bez, klasičnom endoskopijom uočljivih, oštećenja sluznice (23,24,25). Temelj patofiziologije ovog poremećaja čini odgovor sluznice jednjaka nakon kontakta s refluksatom i utjecaj sluzničkih čimbenika na percepciju simptoma. Čimbenici kao što su dizmotilitet jednjaka i hijatalna hernija rjeđi su kod NERB-a nego erozivnog ezofagitisa (8,24,26). Smanjeni klirens kiseline (refluksata) iz jednjaka uočen u erozivnom ezofagitisu nije uobičajen kod NERB-a, međutim bolesnici s NERB-om pokazuju veću senzitivnost proksimalnog jednjaka (9, 26). Unatoč podjednakom izlučivanju kiseline kod NERB-a i erozivog ezofagitisa (11,26), bolesnici s NERB-om imaju manji refluks u usporedbi s onima s erozivnim ezofagitisom i Barrettovim jednjakom (12,26). Čini se da kod NERB-a proksimalna migracija kiseline i nekiselog refluksata igra ulogu u stvaranju simptoma (9,26). Količina kiseline i slabo kiselog refluksata veći su u erozivnom ezofagitisu i Barrettovu jednjaku nego kod NERB-a (16,26), ali pacijenti s NERB-om pokazuju homogeniju raspodjelu kiseline u jednjaku i veći proksimalni refluks (17,26). Korištenjem impedancije jednjaka pokazalo se da bolesnici s NERB-om za razliku od zdravih ispitanika imaju opsežnije proksimalne refluksne neovisno o izloženosti jednjaka kiselini (22,26), a kasnije su studije povezale opisana opažanja i s percipiranjem simptoma GERB-a u bolesnika refraktornih na antisekrecijsko liječenje (20,26). Nadalje veća osjetljivost na slabo kiseli refluksat kod bolesnika s NERB-om u odnosu na one s erozivnim ezofagitisom pomaže objašnjenju slabog odgovora na antisekrecijsko liječenje. Moguće objašnjenje nastanka simptoma kod NERB-a uključuje mikroskopsku upalu sluznice, visceralnu hipersenzitivnost (u stresu, u snu) i kontinuirane kontrakcije jednjaka (19,26). Uočeno je, da uslijed izloženosti kiselini, nastaje oštećenje međustaničnih veza u sluznici jednjaka, proširenja međustaničnih prostora (DIS, od *engl. Dilated Intercellular Spaces*), povećanje propusnosti i prodor refluksata u submukozu i kontakta s kemosenzitivnim nociceptorima (26,27). DIS je primijećen i kod NERB-a i u erozivnom ezofagitisu, no bez značajne specifičnosti. Naime, promjena je također pronađena i kod 30% asimptomatskih pojedinaca (26,28). Pokazano je da je DIS reverzibilan događaj, tj. da se liječenjem antisekretornim lijekovima smanjuje ili u potpunosti nestaje (26,29). Razvoj DIS-a također mogu potaknuti žučne kiseline u refluksatu, ali i stres (26,30,31). Stres navodno povećava propusnost epitela jednjaka potičući razvoj DIS-a čemu dodatno doprinosi izloženost kiselini (31). Navedena zapažanja upućuju na složen odnos između stresa, izlaganja kiselini i nastanka simptoma refluksa.

Prema trenutnoj definiciji, kod NERB-a ne postoje ozljede sluznice vidljive konvencionalnom endoskopijom (25). Međutim, već od 70-ih godina prošlog stoljeća postoje istraživanja usmjerena prepoznavanju ranih, minimalnih, oku nevidljivih oštećenja sluznice i predlaže se uvođenje novog termina - „lezija minimalnih promjena“ (26,32,33), koja su uključena u endoskopsku klasifikaciju NERB-a u Japanu. Los Angeles klasifikacija, osim standardnih A, B, C i D stadija uvodi i M (minimalne promjene poput eritema bez oštre demarkacije, nevidljivost krvnih žila) i N stadij (N – jednjak bez minimalnih promjena ili oštećenja mukoze). Histološke promjene, nastale utjecajem kiselog refluksata želuca dijelimo na:

- 1) Hiperplaziju bazalnih stanica
- 2) Papilarnu elongaciju
- 3) DIS

Dilatirani intercelularni prostor je predložen kao rani morfološki marker GERB-a. DIS je dio i histološke slike GERB-a, pa ga se može prihvatiti i kao objektivni, strukturni marker simptoma GERB-a. DIS je čest, ali nespecifičan marker NERB-a (34).

Kombinirajući endoskopske i histološke markere u dijagnostici NERB-a postiže se osjetljivost od 62% i specifičnost od 74%. Trajanje simptoma posljednja 3 mjeseca, s početkom od najmanje 6 mjeseci prije postavljanja dijagnoze dio je uvjeta uključenih u ROME III dijagnostičke kriterije NERB-a. Kao što je navedeno dijagnozu NERB-a se može postaviti tek ako je endoskopski isključen erozivni ezofagitis, no treba napomenuti da je endoskopska dijagnoza NERB-a neprecizna, točnost ovisi o opremi, diferencijalnoj dijagnozi, ali i o sposobnosti endoskopičara (iskustvo, senzibilizacija na traženje minimalnih lezija) (34,35).

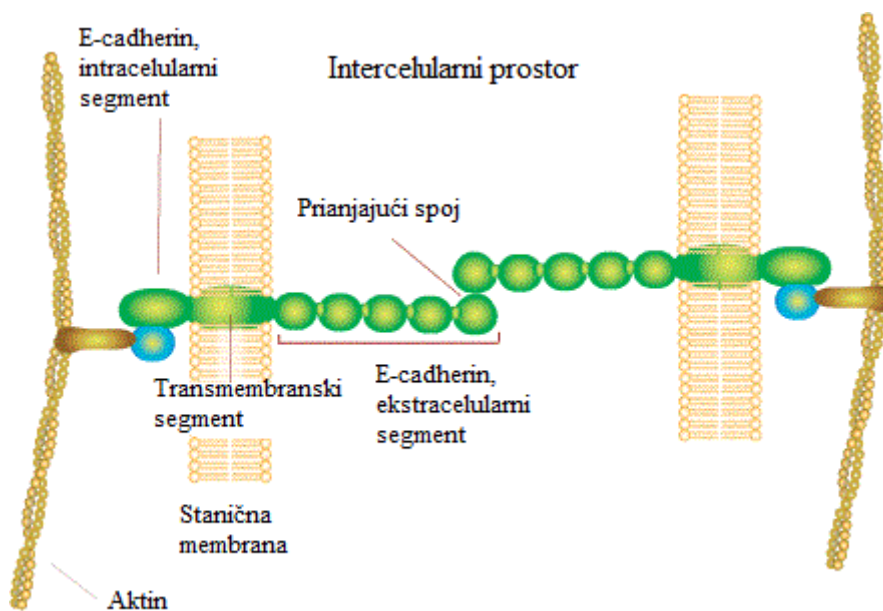
1.6. Cadherini

Za održavanje kontinuiteta sluzničkog epitela i time prevencije DIS-a veoma su važni tzv. transmembranski proteini (36,37). Intercelularni prostor nije prazan prostor, već se u njemu nalazi brojna skupina proteina, koja uglavnom pripada dezmostogleinima i dezmostocadherinima. Mnogi dezmosomalni cadherini kao što su dezmostoglein i dezmostokolin dostupni su detekciji antitijelima koje koristimo kako bi označili ove proteine koji povezuju stanice (38,39). Njihova uloga je zaštita stanica od štetnog utjecaja održavanjem staničnog kontinuiteta, pa njihovim oštećenjem dolazi do DIS-a. Taj termin se najčešće koristi u

dermatopatologiji i označava stvaranje spongioze – nespecifičnog uzorka oštećenja epitela. Osim oštećenjem međustaničnih („tight junction“) proteina, spongioza je uzrokovana i upalnom reakcijom koja zahvaća epitel bazalnoga sloja stanica (40). Ta činjenica otvara brojna pitanja, jer znamo da oštećenje želudčanim kiselim sadržajem zahvaća prvenstveno luminalni dio jednjaka, a DIS nalazimo uglavnom u parabazalnom sloju stanica jednjaka. Oštećenjem „tight junction“ proteina i stvaranjem DIS-a omogućen je prodor štetnih čimbenika do receptora podražaj kojih je odgovoran za percepciju smetnji (bol, žgaravica, ...) (40). Epitel jednjaka u GERB-u pokazuje povećanu permeabilnost, koja je povezana sa proteolitičkim cijepanjem e-cadherina. Njegov gubitak predstavlja kritičan događaj u patogenezi GERB-a, a njegovi fragmenti se mogu koristiti kao biomarker GERB-a (37). Osim e-cadherina, zahvaljujući oštećenju mukoznog integriteta, mukozna impedanca, histološka svojstva promijenjenog epitela jednjaka, te drugi proteolitički fragmenti međustaničnih proteina predstavljaju obećavajući marker GERB-a (41).

Cadherini su transmembranski proteini koji pripadaju velikoj skupini proteina stanične adhezije koji sudjeluju u međustaničnim interakcijama. Međustanična adhezija selektivan je proces, tako da stanica priliže samo uz stanicu specifičnog tipa. Mnoge adhezijske interakcije među stanicama odvijaju se samo u nazočnosti divalentnih kationa, tj. Ca^{2+} , Mg^{2+} i Mn^{2+} (40). Postoje dvije velike skupine međustaničnih interakcija:

- 1) *Heterofilne interakcije* - adhezijska molekula na površini jedne stanice prepoznaje drukčiju molekulu na površini druge stanice.
- 2) *Homofilne interakcije* - adhezijska molekula na površini jedne stanice prepoznaje istu takvu molekulu na površini druge stanice.



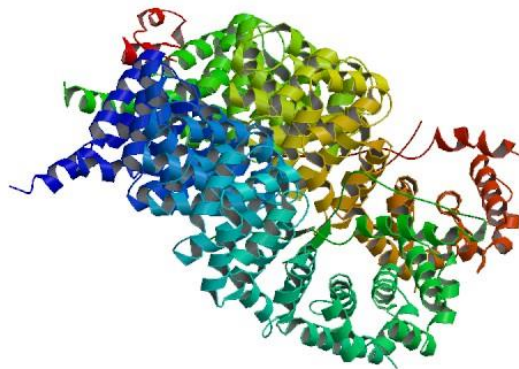
Slika 1.- shema intercelularnih veza uz pomoć cadherina

Cadherini su homofilni, kalcij ovisni proteini, a postojećih oko 80 članova raspoređeno je u 20 porodica. Uloga cadherina u povezivanju citoskeleta susjednih stanica analogna je ulozi integrina u stvaranju stabilnih spojeva između stanica i izvanstaničnog matriksa. Izvojit ćemo sljedeće porodice:

- 1) P-cadherini (Placentalni cadherini) – zaduženi za selektivnu adheziju između embrionalnih stanica
- 2) N-cadherini (Neuralni cadherini) – zaduženi za oblikovanje sinapsi u živčanom sustavu
- 3) E-cadherini (Epitelni cadherini) – zaduženi za stvaranje stabilnih spojeva između stanica u tkivu.

Postoji i nekoliko potporodica cadherina (klasični cadherini, dezmosomski cadherini, mastima slični cadherini, cadherini sa sedam transmembranskih domena), a međusobno se razlikuju kako u transmembranskoj tako i u citosolnoj domeni (40).

Gen CDH1 kodira e-cadherin, molekulu koja izgrađuje stanične spojeve. E-cadherin je eksprimiran na epitelnim stanicama pa homofilne interakcije između e-cadherina dovode do selektivne adhezije epitelnih stanica. Gubitak e-cadherina može dovesti i do razvoja karcinoma epitelnih stanica. To nam govori o važnosti međustaničnih interakcija u nadzoru staničnog ponašanja (37,42).



Slika 2.- Prikaz E cadherin / β catenin kompleks

1.7. Klinička slika GERB-a

Klinički tijek bolesti nije uvijek jednak i najčešće se prezentira na jedan od tri načina:

1. *Blagi oblik* bolesti očituje se simptomima samo povremeno, ne prate ga promjene na jednjaku, pa ga najčešće nazivamo „jednjakom preosjetljivim na kiselinu“
2. *Intermedijarni oblik* kronično je stanje praćeno svakodnevnim žgaravicom, najmanje kroz tri mjeseca i nema promjena na jednjaku.
3. *Teški oblik* je oblik s erozijama, ulkusima i strikturama jednjaka, potom Barrettovim jednjakom i na kraju adenokarcinomom jednjaka (13).

Simptome i znakove dijelimo na temelju Montrealske definicije i podjele GERB-a na tipične – ezofagealne, i atipične – ekstreazofagealne (43).

1.8. Tipični ezofagealni simptomi

Žgaravica je vodeći simptom bolesti. Opisuje se kao žareća bol u sredini prsišta, a može se proširiti sve do vrata (2). Kod nekih bolesnika bol može biti probadajuća i sličiti srčanoj boli (angini), a kod nekih bolesnika bol se širi prema leđima (44). Žgaravica je svakodnevna pojava kod oko 7% odraslog stanovništva. Ona je najčešća nakon obimnijeg obroka te veoma začinjene hrane.

Ezofagealni sindromi se dijele na:

1. Sindrome bez oštećenja sluznice: tipični refluksni sindrom i refluksni sindrom – bol u prsima.
2. Sindrome s oštećenjem sluznice: refluksni ezofagitis, refluksna striktura/stenoza, Barrettov jednjak i adenokarcinom jednjaka.

Žgaravica može trajati godinama, s povremenim asimptomatskim razdobljima, a dijagnostička osjetljivost joj iznosi visokih 90%. Popratni simptomi kao nadutost, mučnina, bolovi u truhu čine dijagnozu GERB-a manje vjerojatnom. Žgaravica međutim, nije siguran znak organskih promjena jednjaka. Bolesnici sa srednjim i teškim oblikom GERB-a često nemaju žgaravicu, a nema je ni 25% bolesnika s Barrettovim jednjakom (15,17).

Regurgitacija je iznenadni, spontani refluks manje količine kiseline u usnu šupljinu i javlja se uglavnom nakon obroka. Osjećaj kiselog okusa u ustima nastaje kada manja količina tekućine iz jednjaka kroz gornji sfinkter jednjaka (GSJ) dođe u grlo, a ukoliko kroz GSJ prođe veća količina sadržaja, bolesnik može imati usta puna tekućine ili hrane. Regurgitacija se javlja kod 2/3 osoba s GERB-om, ali je česta i kod zdravih osoba (17).

Disfagija je otežano gutanje i nastaje kod više od 30% bolesnika s GERB-om. Postupni razvoj disfagije za krutu hranu najčešće vidimo kod bolesnika s dugogodišnjom žgaravicom. Mršavljenje je rijetko, jer bolesnici uglavnom imaju dobar tek. Najčešći uzroci mršavljenja su peptičke strikture, teška upala jednjaka, poremećaji peristaltike i adenokarcinom nastao iz Barrettova jednjaka (18).

Rijetki simptomi koji su povezani sa GERB-om su: naglo naviranje slane ili kisele tekućine u usnu šupljinu, podrigivanje, štucanje, bolno gutanje, mučnina i povraćanje. Neki, uglavnom stariji bolesnici su bez simptoma (18).

1.9. Atipični (ekstraefagealni) simptomi

Osim tipičnih ezofagealnih simptoma, GERB je često povezan s brojnim ekstraefagealnim simptomima. Najčešće ekstraefagealne pojave su refluksni sindrom kašlja (suhi kašalj), refluksni astmatski sindrom i refluksni laringealni sindrom (promuklost) (30). Velik dio bolesnika s ekstraefagealnim simptomima GERB-a nema tipične simptome žgaravice i regurgitacije, a manje od 30% bolesnika ima znakove refluksnog ezofagitisa (18). Većina ekstraefagealnih manifestacija GERB-a se liječi antisekretornim lijekovima – inhibitorima protonske pumpe (IPP).

1.10. Komplikacije GERB-a

Tijekom vremena, kronična upala u jednjaku može dovesti do komplikacija (14):

- 1) *Striktura jednjaka* - ponavljana oštećenja epitelnih stanica donjeg dijela jednjaka kiselinom dovode do ožiljnih promjena, suženja jednjaka i otežanog gutanja.
- 2) *Vrijed jednjaka* - želudčana kiselina može erodirati tkivo jednjaka i tako stvoriti ulkus (vrijed), koji može biti uzrok otežanog gutanja, boli i krvarenja.
- 3) *Barrettov jednjak* - metaplazija višeslojnog pločastog epitela jednjaka u cilindrični epitel želuca zbog regurgitacije vodi povećanom riziku raka jednjaka.

1.11. Liječenje GERB-a

Tri su glavna razloga za liječenje GERB-a:

1. Oslobođanje bolesnika simptoma koji pogoršavaju kakvoću života
2. Sprječavanje nastanka komplikacija bolesti ili liječenje istih ako već postoje
3. Održavanje remisije, odnosno sprječavanje ponovnog nastanka bolesti (45).

Četiri su glavna načina liječenja GERB-a:

1. Promjena životnog stila
2. Upotreba lijekova
3. Endoskopsko liječenje
4. Kirurško liječenje

Promjena životnoga stila - kod dijela oboljelih osoba promjenama životnih navika i prehrane dolazi do poboljšanja simptoma bolesti (46). Potrebno je:

- 1) *Održavanje idealne tjelesne težine* - višak težine stvara pritisak na abdomen, podiže želudac i potiče regurgitaciju sadržaja želuca u jednjak.
- 2) *Izbjegavanje uske odjeće* – odjeća koja je uska oko struka dovodi do porasta intraabdominalnog tlaka i time potiče refluks.
- 3) *Izbjegavanje hrane i pića koji uzrokuju žgaravicu* – npr. masna ili pržena hrana, umak od rajčice, alkohol, čokolada, metvica, češnjak, luk, kava.
- 4) *Konзумiranje manjih obroka* – česti, mali obroci djeluju protektivno, kao i
- 5) *Izbjegavanje običaja lijeganja nakon obroka* – horizontalni položaj potiče refluks.

- 6) *Spavanje na podignutom uzglavlju* – podizanje uzglavlja za 15 – 22 cm dovodi do smanjenja refluksa.
- 7) *Prestanak pušenja* – pušenje smanjuje sposobnost kontrakcije donjeg sfinktera jednjaka (47).

Upotreba lijekova (farmakoterapija) je najvažniji način liječenja GERB-a. Glavni lijekovi koji se koriste u liječenju GERB-a su:

1. Antacidi
2. Antagonisti histaminskih H₂ receptora
3. Inhibitori protonske pumpe (IPP)

Zbog čestih relapsa bolesti, neovisno o endoskopskom nalazu, većina bolesnika treba učinkovito liječenje održavanja s ciljem ublažavanja simptoma i sprječavanja kasnih komplikacija (48). Najčešće se farmakoterapija GERB-a provodi inhibitorima protonske pumpe (IPP) koji su najučinkovitiji i dobro podnošljivi. Ukoliko je liječenje IPP neučinkovito (49), treba razmišljati o endoskopskom ili kirurškom liječenju (50).

Endoskopsko liječenje savjetuje se osobama koje povoljno reagiraju na liječenje inhibitorima protonske pumpe, ali ne podnose njihovo dugotrajno korištenje i osobama koje ne žele kirurško liječenje. Dosadašnje spoznaje o endoskopskom liječenju ne opravdavaju njegovu čestu primjenu, nego se savjetuju daljnja istraživanja.

Kirurško liječenje GERB-a je ograničeno na bolesnike koji ne žele dugotrajno uzimanje antisekretornih lijekova, bolesnike s dokazanom patološkom izloženosti jednjaka želudčanoj kiselini tijekom 24 sata (dokazano pH-metrijom) i onim bolesnicima s bitno smanjenim tlakom DSJ, pod uvjetom da su dužina jednjaka i peristaltika jednjaka normalne (51). Koriste se:

- 1) *Nissenova fundoplikacija* - postupak u kojem se gornji dio želuca omota oko donjeg dijela jednjaka kako bi ojačao DSJ i spriječio refluks. Taj se postupak ni do danas ne temelji na općeprihvaćenim preporukama.
- 2) *Operacija jačanja donjeg sfinktera jednjaka (Linx)* – minimalno invazivni postupak u kojem se postavlja mali magnetski prsten sa kuglicama oko spoja želuca i jednjaka. Magnetsko privlačenje između kuglica je dovoljno snažno da spriječi refluks želuca u jednjak, ali i dovoljno slabo, tako da ne smeta prolasku hrane kroz jednjak (52).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj je istraživanja bio, kod bolesnika sa simptomima GERB-a bez endoskopskih ili s minimalnim endoskopskim promjenama pokazati:

1. nazočnost ranih mikroskopskih promjena epitela,
2. provjeriti međustanični kontinuitet bojenjem na transmembranske proteine (cadherine).

Istraživanje se temeljilo na sljedećim hipotezama:

1. oštećenje sluznice distalnog jednjaka javlja se rano kod bolesnika s GERB-om i ne prate ga jasne endoskopke promjene,
2. kidanje međustaničnih veza i proširenje međustaničnih prostora u epitelu jednjaka nastaje zbog agresivnog djelovanja sastojaka refluksata,
3. proširenje međustaničnih prostora posljedica je oštećenja transmembranskih proteina odgovornih za održavanje kontinuiteta epitela i rani je patohistološki pokazatelj oštećenja sluznice u simptomatskih bolesnika bez endoskopski uočljivih promjena.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Ispitanici

U ovo presječno istraživanje, nakon pregleda u gastroenterološkoj ambulanti, uključeno je 15 bolesnika (dalje ispitanika) s refluksnim simptomima, prvenstveno žgaravicom i regurgitacijom. Ispitanici su uključeni ukoliko su zadovoljili sljedeće kriterije:

- trajanje simptoma šest mjeseci ili dulje,
- pojava simptoma barem dva puta tjedno bez obzira na njihov intenzitet,
- nisu uzimali antisekretorne lijekove, ASK-u i NSAR barem posljednja tri mjeseca,
- odsustvo drugih bolesti ili stanja od mogućeg utjecaja na simptome (srčane bolesti, trudnoća, ...).

3.2. Metode

Od ispitanika uključenih u istraživanje prikupljeni su anamnestički, antropometrijski, endoskopski i histološki podatci, kako slijedi.

3.3. Upitnik za GERB

Nakon uzimanja anamneze i fizikalnog pregleda svi ispitanici su ispunili *GerdQ upitnik*, tj. upitnik pomoću kojeg su prikupljeni podatci o sljedećim pojavama:

- žgaravici,
- regurgitaciji,
- epigastričnoj boli,
- mučnini,
- poremećajima sna,
- korištenju antacida,

a učestalost navedenih pojava iskazana je jednim od ponuđenih odgovora:

- nisu se javljale,
- javljale su se jedan dan u tjednu,
- javljale su se 2 – 3 dana u tjednu,
- javljale su se 4 – 7 dana u tjednu.

***GerdQ upitnik -
olakšava prepoznavanje
vaših simptoma***

Razmislite o vašim simptomima u proteklih 7 dana.

Označite samo jedno polje za svako pitanje.

| | | NIKAD | 1. DAN | 2.-3. DANA | 4.-7. DANA |
|---|---|-------|-----------|---------------|---------------|
| 1 | Koliko ste često imali osjećaj pečenja iza prsne kosti (žgaravicu)? | | | | |
| 2 | Koliko ste često imali neugodan povrat želučanog sadržaja (tekućine ili hrane) u grlo ili usta (regurgitaciju)? | | | | |
| 3 | Koliko ste često osjećali bol u sredini gornjeg dijela želuca? | | | | |
| 4 | Koliko ste često imali osjećaj mučnine? | | | | |
| 5 | Koliko ste često imali problema sa spavanjem uzrokovanih simptomima bolesti (žgaravica ili regurgitacija)? | | | | |
| 6 | Koliko ste često uzimali neke druge lijekove za žgaravicu ili regurgitaciju (npr. Gastal, Rupurut, Rutacid, Rennie, Kompensan i sl.) osim onih koje Vam je prepisao liječnik? | | | | |

Slika 3.- Izgled GerdQ upitnika

3.4. Antropometrijski pokazatelji:

- spol,
- dob (u godinama),
- visina (u cm),
- tjelesna masa (u kg),
- indeks tjelesne mase (ITM).

3.5. EKG

Svim ispitanicima je učinjen EKG radi isključivanja možebitnog kardijalnog porijekla retrosternalne boli.

3.6. Ezofagogastroduodenoskopija

Ezofagogastroduodenoskopija (EGD) je učinjena svim ispitanicima sa simptomima GERB-a. Pregled je učinjen u Kabinetu za endoskopiju KBC Split na lokalitetu Križine u nazočnosti dvojice endoskopičara. Korištena je endoskopska oprema *Evis Exera II*. tvrtke Olympus (Olympus Medical System Corp. 2951/Shikawacho, Hachioji-shi, Tokyo, Japan). Pretraga je učinjena nakon pristanka bolesnika, kako je to uobičajeno u svakodnevnoj praksi. Prethodila joj je lokalna anestezija orofarinksa Xylocain sprejem.

3.7. Biopsija sluznice jednjaka

Biopsija je učinjena kod svih ispitanika sa simptomima GERB-a. Bioptičkim klještimama učinjene su biopsije sluznice distalnog jednjaka na četiri mjesta u prostoru do najviše 5 cm kranijalno od ore serratae.

3.8. Patohistološka dijagnostika

Patohistološka dijagnostika (PHD) je činjena radi otkrivanja možebitnih patoloških promjena sluznice distalnog jednjaka, a osobito proširenja međustaničnih prostora koji se u postojećoj literaturi često navode kao najraniji, tj. prvi znak sluzničnog oštećenja. Stoga su svi preparati obrađeni i metodom imunohistokemije pri čemu su se kod svih upotrijebila protutijela na *e-cadherin*, a u većini i na *β-catenin*.

3.9. Statistička analiza

Opis razdiobe podataka kod kontinuiranih varijabli iskazan je srednjom vrijednosti \pm standardna devijacija ($M \pm SD$), a kod nominalnih vrijednosti frekvencijama i postocima.

Obrada podataka izvršena je statističkim programom SPSS Statistics (inačica 12.0, SPSS Inc, Chicago, SAD).

4. REZULTATI

U istraživanje je uključeno 15 ispitanika sa simptomima GERB-a sljedećih antropometrijskih značajki. Ispitanici su na temelju uključnih kriterija probirani u redovnoj gastroenterološkoj ambulanti u periodu od ožujka do zaključno lipnja 2013. godine.

Tablica 1. Prikaz antropometrijskih značajki ispitanika

| Ispitanici | M (♂) | Ž(♀) | Ukupno |
|---------------------------------|------------|-----------|-----------|
| Broj | 6 (40%) | 9 (60%) | 15 (100%) |
| Prosječna životna dob (god.)* | 45,5±10,1 | 42,3±5,9 | 43,6±7,7 |
| Prosječna tjelesna visina (cm)* | 183,7±4,5 | 168,7±3,5 | 174,7±8,5 |
| Prosječna tjelesna težina (kg)* | 88,8±6,3 | 69,3±2,6 | 77,1±10,8 |
| ITM* | 26,05±1,21 | 24,4±1,36 | 25,1±1,6 |

*M±SD

ITM = indeks tjelesne mase

Žgaravica, kao dominantni simptom refluksa, bila je i glavni kriterij probira ispitanika. Razlika među ispitanicima bila je stoga samo u intenzitetu i učestalosti. Očekivano, drugi najčešći simptom bila je regurgitacija. U tablici 2 navedeni su simptomi u ispitanika prikupljeni prema *GerdQ* upitniku.

Tablica 2. Prikaz simptoma prikupljenih GerdQ upitnikom

| Simptomi ispitanika i njihova učestalost u posljednjih 7 dana | Broj (%) ispitanika | | | |
|---|---------------------|----------|----------|----------|
| | Nikad | 1 dan | 2-3 dana | 4-7 dana |
| 1. Žgaravica | 0 (0) | 0 (0) | 12 (80) | 3 (20) |
| 2. Regurgitacija | 3 (20) | 2 (13,3) | 7 (46,7) | 3 (20) |
| 3. Epigastrična bol | 5 (33,3) | 6 (40) | 4 (26,7) | 0 (0) |
| 4. Mučnina | 7 (46,7) | 3 (20) | 4 (26,7) | 1 (6,7) |
| 5. Poremećaj sna radi žgaravice i/ili regurgitacije | 11 (73,3) | 2 (13,3) | 2 (13,3) | 0 (0) |
| 6. Učestalost uzimanja antacida | 9 (60) | 1 (6,7) | 4 (26,7) | 1 (6,7) |

Ezofagogastroduodenoskopija nam je omogućila uvid u makroskopske, oku vidljive promjene sluznice i patohistološko uzorkovanje. Kod ispitanika s ezofagitisom promjene su bile minimalne, tj. po Los Angeles klasifikaciji odgovarale su stupnju A. U tablici 3 prikazana je raspodjela ispitanika prema endoskopskom nalazu.

Tablica 3. Prikaz endoskopskih nalaza

| Ispitanici | Broj (%) ispitanika | | |
|-----------------|---------------------|--------|-----------|
| | M (♂) | Ž (♀) | Ukupno |
| Bez ezofagitisa | 4 (26,7) | 6 (40) | 10 (66,7) |
| S ezofagitisom | 2 (13,3) | 3 (20) | 5 (33,3) |

Patohistološkom dijagnostikom uočene su tek minimalne „promjene“. Naime kod dijela ispitanika opisana je hiperplazija bazalnog sloja epitelnih stanica, te najčešće blaga do umjerena infiltracija upalnim stanicama, predominantno mononuklearima. Bojanjem na *e-cadherin* i *β-catenin* dobijen je uniformni nalaz u smislu jake membranske obojenosti. Prikaz rezultata patohistološke dijagnostike nalazi se u tablici 4.

Tablica 4. Prikaz nalaza PHD

| Nalaz PHD | Broj (%) ispitanika | |
|------------------------------|---------------------|----------|
| | Da | Ne |
| Hiperplazija bazalnog sloja | 7 (46,7) | 8 (53,3) |
| Upalni infiltrat | 7 (46,7) | 8 (53,3) |
| Potpuna membranska obojenost | 15 (100) | 0 (0) |
| Izduženje stromalnih papila | 3 (20) | 12 (80) |

5. RASPRAVA

Poštujući činjenicu da je endoskopski nalaz u bolesnika sa simptomima GERB-a pretežno negativan ili neznatan, pokušali smo utvrditi jesu li u simptomatskoj, endoskopski negativnoj fazi bolesti ili fazi bolesti s minimalnim promjenama tipa hiperemije i/ili malih erozija prisutne bilo kakve histološke promjene epitela jednjaka, posebno najčešće spominjana dilatacija međustaničnih prostora (DIS). Iako se navedena promjena drži inicijalnim oštećenjem, literaturni podatci navode njenu nespecifičnost, tj. ističu da se podjednako nalazi u erozivnim i neerozivnim oblicima bolesti (33,34). Među našim ispitanicima petorica su imala najblaži oblik erozivne bolesti, tj. hiperemiju i/ili kratke uzdužne erozije u području Z crte, koji prema endoskopskoj LA klasifikaciji odgovara stupnju A.

DIS smo pokušali dokazati metodom imunohistokemije koristeći protutijela na transmembranske proteine, tzv. cadherine. Cadherini su, kao što je već navedeno, transmembranski proteini odgovorni za stvaranje međustaničnih veza, pa njihovo oštećenje vodi slabljenju međustanične povezanosti i posljedičnom proširenju međustaničnih prostora (36-39,41).

Logično je bilo očekivati da će se promjene najprije pojaviti i biti najizraženije u epitelu jednjaka koji je najizloženiji refluksatu, pa smo područje za uzimanje biopsijskih uzoraka ograničili na prostor unutar do najviše 5 cm kranijalno od ore serattae.

Unatoč našim pretpostavkama ni u jednom uzorku nismo dokazali proširenje međustaničnih prostora. Naši rezultati bili su uniformni, tj. bojanjem na e-cadherin i β -catenin u uzorcima svih ispitanika dobivena je jaka membranska obojenost koja je pokazatelj očuvanosti kontinuiteta epitela, tj. održanih dobrih međustaničnih veza i svakako ne govori za dilataciju međustaničnih prostora.

Iako spomenutom metodom nismo uspjeli utvrditi nazočnost DIS-a, ipak su se patohistološkom dijagnostikom kod dijela ispitanika prepoznale promjene koje se u literaturi (34,36,41,53) vežu za refluks. Naime, u nešto manje od polovice ispitanika utvrđena je hiperplazija bazalnih epitelnih stanica i infiltracija upalnim stanicama, uglavnom limfocitima i plazma stanicama. Izduženje stromalnih papila još je jedna histološka promjena koja se povezuje s refluksom, a uočena je u uzorcima trojice ili 20% ispitanika.

Identične studije u literaturi nismo našli, no pronašli smo slične koje su se koristile također imunohistokemijskim metodama, ali s drugim markerima (54). Većina tih studija potvrdila je nazočnost DIS-a, kao i ostalih navedenih histoloških promjena opisanih u

uzorcima naših ispitanika. U studijama se za patogenezu GERB-a važnim drže promjene sluznične arhitekture (npr. DIS) i molekularne dezmosomalne promjene (53,54).

Korištenom metodom, među našim ispitanicima, dakle nismo dokazali nazočnost DIS-a, a k tomu valja istaći da su bilo kakve histološke promjene povezane s refluksom utvrđene u manje od 50% ispitanika. Budući da su ispitanici izabrani među onima s nepobitnim i dugotrajnim simptomima, nameće se pitanje koristi od ove dijagnostike u svakodnevnoj praksi u endoskopski negativnih bolesnika. Naime, svakako treba uzeti u obzir da sama biopsija produljuje trajanje pretrage i time povećava nelagodu bolesnika. Nadalje, biopsija povlači i druge rizike, npr. pojavu krvarenja, premda nam iskustvo kaže da su komplikacije navedenog postupka iznimno rijetke. Cijena koštanja cjelokupne dijagnostike, i endoskopske i histološke, dodatna je nepovoljna okolnost.

No, kako bilo da bilo, neovisno o našim rezultatima, držimo da GERB, unatoč novovremenoj tehnologiji i dalje predstavlja dijagnostički izazov, jer su žgaravica i regurgitacija još uvijek najvažniji dijagnostički ključ. To svakako otvara prostor za kreiranje novih, učinkovitijih i osjetljivijih dijagnostičkih postupaka. Do tada, čini se da je najučinkovitiji pristup kod ovih bolesnika simptomatsko liječenje. Iskustvo kaže da se kod većine bolesti dobro može kontrolirati antisekretornim lijekovima. Tomu treba pridružiti i povremene endoskopske preglede, uključujući i one bolesnike s blagom do umjerenom kliničkom slikom, jer u svakodnevnoj praksi često uočavamo nepodudarnost između težine kliničke slike i endoskopskog nalaza.

6. ZAKLJUČCI

1. Prikazanim istraživanjem nismo uspjeli dokazati proširenje međustaničnih prostora u epitelu distalnog jednjaka.
2. Rezultat je bio podjednak kod svih ispitanika, tj. ni među ispitanicima s minimalnim endoskopskim promjenama nije bilo nikakvih razlika.
3. Ostale, refluksu pripisane histološke promjene, uočene su u manje od 50% ispitanika.
4. Na temelju dobivenih rezultata histološko uzorkovanje u simptomatskoj, endoskopski negativnoj refluksnoj bolesti ne čini se učinkovitim.
5. Korisnost ove dijagnostike, u ovoj fazi bolesti, dodatno umanjuje nelagoda kojoj je bolesnik izložen prilikom zahvata, ali, ne manje bitno, i cijena koštanja dijagnostičkih postupaka (biopsija, histologija).
6. Čini se stoga najsuvisljijim izborom liječenje koje uključuje kombinaciju promjena životnih navika, primjerene dijete i povremenog uzimanja antisekretornih lijekova.
7. Praćenje bolesnika će, zbog čestog nesklada između kliničke slike i endoskopskog nalaza, zahtijevati i periodične endoskopske preglede.

7. LITERATURA

1. Pulanić R. Gastroezofagealna refluksna bolest. U: Vucelić B i sur., ur. Gastroenterologija i hepatologija. Zagreb: Medicinska naklada, 2002; str. 389-409.
2. Delaney B. Review article: prevalence and epidemiology of gastroesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20(Suppl 8):2-4.
3. El-Serag HB, Sweet S, Winchester CC, Dent J. Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* 2014;63(6):871-80.
4. Kotzan J, Wade W, Yu HH. Assessing NSAID prescription use as a predisposing factor for gastroesophageal reflux disease in a Medicaid population. *Pharm Res* 2001;18:1367-72.
5. Shaheen N, Provenzale D. The epidemiology of gastroesophageal reflux disease. *Am J Med Sci* 2003;326:264-73.
6. El Serag HB, Sonnenberg A. Associations between different forms of gastroesophageal reflux disease. *Gut* 1997;41:594-9.
7. Avidan B, Sonnenberg A, Schnell TG i sur. Hiatal hernia size, Barrett's length and severity of acid reflux are all risk factors for esophageal adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1930-6.
8. Chak A, Lee T, Kinnard MF i sur. Familial aggregation of Barrett's oesophagus, oesophageal adenocarcinoma, and oesophagogastric junctional adenocarcinoma in Caucasian adults. *Gut* 2002; 51:323-8.
9. Graham DY. The changing epidemiology of GERD: geography and *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 2003;98:1462-70.
10. Eslick GD, Talley NJ. Gastroesophageal reflux disease (GERD): risk factors, and impact on quality of life-a population-based study. *J Clin Gastroenterol* 2009;43(2): 11-7.
11. Kjelin A, Ramel S, Rossner S, Thor K. Gastroesophageal reflux in obese patients is not reduced by weight reduction. *Scand J Gastroenterol* 1996;31:1047-51.
12. Avidan B, Sonnenberg A, Schnell TG, Sonag SJ. Hiatal hernia and acid reflux frequency predict presence and length of Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci* 2002;47:256-64.
13. Tack J, Becher A, Mulligan C, Johnson DA. The burden of disruptive gastro-oesophageal reflux disease on health-related quality of life: a systematic review. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35(11):1257-66.

14. Armstrong D. Persistence and severity in gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;28(7):841-53.
15. Goyal RK. Diseases of the esophagus. U: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, ur. *Harrison's principles of internal medicine*. New York: McGraw-Hill; 2005, str. 1739-46.
16. Kahrilas PJ, Lee TJ. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease. *Thorac Surg Clin* 2005;15:323-33.
17. Spechler SJ. Gastroesophageal reflux disease and its complications. U: Friedman SL, McQuaid KR, Grendell JH, ur. *Current diagnosis and treatment in gastroenterology*. New York: McGraw-Hill; 2003, str. 266-82.
18. Richter JE. Gastroesophageal reflux disease and its complications. U: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, ur. *Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management*. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2006; str. 905-36.
19. Mittal RK, Balaban DH. The esophagogastric junction. *N Eng J Med* 1997;336:924-32.
20. De Giorgi F, Palmiero M, Esposito I, Mosca F, Cuomo R. Pathophysiology of gastro-oesophageal reflux disease. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2006; 26:241-6.
21. Herbella FA, Patti MG. Gastroesophageal reflux disease: from pathophysiology to treatment. *World J Gastroenterol* 2010;16:3745-9.
22. Mittal RK, Rochester DF, McCallum RW. Electrical and mechanical activity in the human lower esophageal sphincter during diaphragmatic contraction. *J Clin Invest* 1988;81:1182-9.
23. Chen CL, Hsu PI. Current advances in the diagnosis and treatment of nonerosive reflux disease. Hindawi Publishing Corporation *Gastroenterology Research and Practice* 2013;2013:1-8.
24. Modlin IM, Hunt RH, Malfertheiner P, Moayyedi P, Quigley EM, Tytgat GNJ, Tack J, Holtmann G, Moss SF. Non-erosive reflux disease – defining the entity and delineating the management. *Digestion* 2008;78:1-5.
25. Winter JW, Heading RC. The nonerosive reflux disease-gastroesophageal reflux disease controversy. *Curr Opin Gastroenterol* 2008;24(4):509-15.

26. Fass R. Treatment of nonerosive reflux disease (beyond proton pump inhibitors). *Revista de Gastroenterologia de Mexico* 2010;75(Supl 2):1-8.
27. Bochenek WJ, Mack ME, Fraga PD, Metz DC. Pantoprazole provides rapid and sustained symptomatic relief in patients treated for erosive oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:1105-14.
28. Vaezi MF, Richter JE. Contribution of acid and duodenogastro-oesophageal reflux to oesophageal mucosal injury and symptoms in partial gastrectomy patients. *Gut* 1997;41:297-302.
29. DeVault KR. Extraesophageal symptoms of GERD. *Cleve Clin J Med* 2003;70(Suppl 5):20-32.
30. Moore JM, Vaezi MF. Extraesophageal manifestations of gastroesophageal reflux disease: real or imagined? *Curr Opin Gastroenterol* 2010;26:389-94.
31. Nemzek JA, Kim J. Pulmonary inflammation and airway hyperresponsiveness in a mouse model of asthma complicated by acid aspiration. *Comp Med* 2009;59:321-30.
32. Ismail-Beigi F, Horton PF, Pope CE: Histological consequences of gastroesophageal reflux in man. *Gastroenterology* 1970;58:163-74.
33. Ismail-Beigi F, Pope CE: Distribution of the histological changes of gastroesophageal reflux disease in the distal esophagus of man. *Gastroenterology* 1974;66:1109-1113.
34. Wang C, Hunt RH: Precise role of acid in non-erosive reflux disease. *Digestion* 2008;78(suppl 1):31-41.
35. Armstrong D. A critical assessment of the current status of non-erosive reflux disease. *Digestion* 2008;78(suppl 1): 46-54.
36. Zhong C, Duan L, Wang K i sur. Esophageal intraluminal baseline impedance is associated with severity of acid reflux and epithelial structural abnormalities in patients with gastroesophageal reflux disease. *J Gastroenterol* 2013;48(5):601-10.
37. Jovov B, Que J, Tobey NA i sur. Role of E-cadherin in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2011;106(6):1039-47.

38. Wex T, Kuester D, Mönkemüller K i sur. Assessment of desmosomal components (desmoglein 1-3, plakoglobin) in cardia mucosa in relation to gastroesophageal reflux disease and Helicobacter pylori infection. *Hum Pathol* 2012;43(10):1745-54.
39. Björkman EV, Edebo A, Oltean M, Casselbrant A. Esophageal barrier function and tight junction expression in healthy subjects and patients with gastroesophageal reflux disease: functionality of esophageal mucosa exposed to bile salt and trypsin in vitro. *Scand J Gastroenterol* 2013;48(10):1118-26.
40. Cooper GM, Hausman RE. Stanična površina. U: Lauc G ur. Stanica: molekularni pristup. 3. izd. Zagreb: Medicinska naklada, 2004; str. 528-30.
41. Kia L, Pandolfino JE, Kahrilas PJ. Biomarkers of Reflux Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015;25.
42. Pećina-Šlaus N, Nikuševa-Martić T, Perić J. Odabrane metode molekularne biologije. Zagreb: Medicinska naklada, 2009; str. 53.
43. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R; Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1900-20.
44. Ford AC, Suares NC, Talley NJ. Meta-analysis: the epidemiology of noncardiac chest pain in the community. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34(2):172-80.
45. Pulanić R. Gastroezofagealna refluksna bolest i ostale bolesti jednjaka. U: Vrhovac B, Jakšić B, Reiner Ž, Vucelić B, ur. *Interna medicina*. Zagreb: Naklada Ljevak, 2008; str. 768.
46. Esmailzadeh A, Keshteli AH, Feizi A i sur. Patterns of diet-related practices and prevalence of gastro-esophageal reflux disease. *Neurogastroenterol Motil* 2013;25(10): 831-e638.
47. Mayo Clinic, GERD lifestyle and home remedies. [Online]. 2014. Dostupno na: www.mayoclinic.org [15.01.2016.].
48. Carlsson R, Dent J, Watts R i sur. Gastro-oesophageal reflux disease in primary care: an international study of different treatment strategies with omeprazole. International GORD Study Group. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998;10:119-24.
49. Raghunath AS, Hungin AP, Mason J, Jackson W. Symptoms in patients on long-term proton pump inhibitors: prevalence and predictors. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29(4):431-9.
50. Štimac D, Hauser G, Milić S. Farmakoterapija GERB-a. *Medix* 2007;70:81-5.

51. Triadafilopoulos G. Endotherapy and surgery for GERD. *J Clin Gastroenterol* 2007;41(suppl 2):87-96.
52. Mayo Clinic, GERD treatments and drugs. [Online]. 2014. Dostupno na: www.mayoclinic.org [15.01.2016.].
53. Triantos C, Koukias N, Karamanolis G, Thomopoulos K. Changes in the esophageal mucosa of patients with non erosive reflux disease: How far have we gone? *World J Gastroenterol* 2015;21(19):5762-7.
54. Wex T, Mönkemüller K, Stahr A i sur. Gastro-oesophageal reflux disease is associated with up-regulation of desmosomal components in oesophageal mucosa. *Histopathology* 2012;60:405-15.

8. SAŽETAK

CILJ: Pokušati utvrditi rana oštećenja sluznice jednjaka u vidu proširenja međustaničnih prostora (DIS) epitela distalnoga jednjaka pomoću imunohistokemijskog bojanja na transmembranske proteine.

ISPITANICI I METODE: Presječno istraživanje provedeno na 15 ispitanika s refluksnim simptomima. Probir je izvršen na temelju GerdQ upitnika. Ključni podatci prikupljeni su videoendoskopijom, biopsijom i patohistološkom analizom uzoraka. Svim ispitanicima uzeta su po 4 uzorka sluznice distalnog jednjaka. Korišteno je imunohistokemijsko bojanje na transmembranske proteine e-cadherin i β -catenin. Integritet transmembranske obojenosti prihvaćen je kao pokazatelj kontinuiteta epitela, a time i proširenja međustaničnih prostora.

REZULTATI: Među ispitanicima nije dokazan DIS. Dobivena je kod svih (100%) jaka transmembranska obojenost, kao neupitan znak očuvanosti kontinuiteta epitela. Manje od 50% ispitanika imalo je patohistološke promjene koje se mogu povezati s refluksom, tj. 46.7% je imalo hiperplaziju bazalnih stanica epitela i infiltraciju upalnim stanicama, a samo 20% izduženje stromalnih papila.

ZAKLJUČCI: Imunohistokemijskim bojanjem na transmembranske proteine nije dokazano proširenje međustaničnih prostora, a i ostale histološke promjene zabilježene su samo u manjeg broja ispitanika. Sve to umanjuje vrijednost ove dijagnostike u endoskopski negativnoj fazi bolesti, daje prednost simptomatskom liječenju i ambulantnom praćenju bolesnika.

9. SUMMARY

OBJECTIVE: To determine the early esophageal mucosis changes manifested as dilatation of intercellular space (DIS) of distal esophageal epithelium by immunohistochemical staining of transmembrane proteins.

METHODS: A cross - sectional study that enrolled 15 respondents with reflux symptoms. Screening was based on GerdQ questionnaire. Key data were obtained by videoendoscopy, biopsy and patohistological sample analysis. 4 distal esophagus mucosis samples were taken from all respondents. Immunohistological staining of transmembrane proteins e-cadherin and β -catenin was used. The intensity of transmembrane staining was accepted as an indicator of the continuity of the epithelium, as well as dilatation of intercellular spaces.

RESULTS: There was no evidence of DIS among the respondents. As indisputable sign of preservation of the continuity of the epithelium, strong transmembrane staining resulted in all (100%) respondents. Less than 50% of the respondents had patohistological changes that could be associated with reflux, 46.7% had basal epitel cell hiperplasia and infiltration of inflammatory cells, and only 20% of respondents had elongation of stromal papillae.

CONCLUSIONS: Dilatation of intercellular space was not proven by immunohistochemical staining of transmembrane proteins, and the other histological changes were recorded with a smaller number of respondents. All this reduces the value of this particular diagnostic procedure in the endoscopic negative stage of the disease, and gives priority to symptomatic treatment, as well as ambulatory follow up of the patients.

10. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Mirko Tandara

Datum i mjesto rođenja: 19.04.1991., Split, Hrvatska

Državljanstvo: Hrvatsko

Adresa stanovanja: Ruđera Boškovića 12, 21000 Split

E-mail: mirko.tandara@gmail.com

Obrazovanje: 1997. – 2005. pohađao Osnovnu školu „ Split 3“, Split

1999. – 2005. pohađao Osnovnu glazbenu školu Josipa Hatzea, Split

2005. – 2009. pohađao IV. gimnaziju „ Marko Marulić“, Split

2009. – 2016. pohađao Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

Strani jezici: Engleski jezik: aktivno znanje

Talijanski jezik: osnovno znanje

Druge aktivnosti:

2000. Županijsko natjecanje iz glasovira – II. nagrada

2000. Prvo natjecanje mladih pijanista – Sesvete – II. nagrada

2002. Županijsko natjecanje iz glasovira – III. nagrada

Sa Mješovitim pjevačkim zborom IV. gimnazije Marko Marulić:

2005. na državnom natjecanju u Varaždinu osvojeno I. mjesto.

2006. na državnom natjecanju u Varaždinu osvojeno I. mjesto.

2007. na državnom natjecanju u Varaždinu osvojeno I. mjesto.

Od 2011. član zbora „ Splitski liječnici pjevači“.

Od 01.08.2011. – 01.09.2011. radio na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Ljubljani, pod mentorstvom prof. Igora Švaba.

2014. Objavio znanstveni članak:

Sanader A, Komić D, Tandara M, Serec M, Pavličević I, Pesjak K, Svab I. Factors in traditional families which affect health and health care: a qualitative study. Collegium antropologicum 2014, 38(3):1001-7.