

Л.М.Камалова^{1,2}, Т.В.Лисовская³, С.Ю.Медведева⁴

Клинико-морфологическая характеристика энтероэндокринной системы у больных хроническим обструктивным бронхитом

1 – ФГБУ "Уральский государственный медицинский университет" Минздрава России: 620000, Екатеринбург, ул. Репина, 3;

2 – МАУ "Городская клиническая больница № 40": 620102, Екатеринбург, ул. Волгоградская, 189;

3 – ФГБУ "Уральский НИИ охраны материнства и младенчества" Минздрава России: 620102, Екатеринбург, ул. Репина, 1;

4 – ФГБУН "Институт иммунологии, физиологии УрО РАН": 620049, Екатеринбург, ул. Первомайская, 106

L.M.Kamalova, T.V.Lisovskaya, S.Yu.Medvedeva

Clinical and morphological features of enteroendocrine system in patients with chronic obstructive pulmonary disease

Summary

Introduction. Comorbidity greatly contributes to progression and severity of chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

The aim of this study was to describe the nature and severity of gastrointestinal paraendocrine disorders in patients with COPD.

Methods. This cross-sectional open randomized controlled study included 84 patients with COPD. We measured blood serotonin concentration and performed immunohistochemical investigation of gastrointestinal APUD cells.

Results. Our results suggested an effect of gastrointestinal disease on the severity of COPD. Hyperserotoninemia and structural and functional disorders in enteroendocrine system were noted even in patients with mild COPD.

Conclusion. The severity of bronchial obstruction could correlate with functional activity of serotonin-producing enteroendocrine cells.

Key words: COPD, serotonin, enteroendocrine cells, static density, optical density.

Резюме

В прогрессировании и тяжести течения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) придается значение сопутствующей патологии. С целью установления характера и тяжести поражения параэндокринной системы гастроинтестинальной зоны у пациентов с различными стадиями ХОБЛ проведено одномоментное исследование, в которое были включены пациенты ($n = 84$) с ХОБЛ. Выполнено исследование уровня серотонина крови, иммуногистохимическое исследование апудоцитов гастроинтестинальной зоны. Получены данные о влиянии гастроинтестинальной патологии на тяжесть течения ХОБЛ. Установлено, что тяжесть бронхообструктивного синдрома коррелирует с функциональной активностью серотонинпродуцирующих энтероэндокриноцитов.

Ключевые слова: обструктивный бронхит, серотонинемия, энтероэндокриноциты, статическая плотность, оптическая плотность.

В прогрессировании и тяжести течения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) определенное значение придается фоновым заболеваниям, в т. ч. органов пищеварения [1, 2].

В то же время исследования, в которых изучается взаимосвязь морфофункционального состояния гастроинтестинальной зоны и тяжести течения ХОБЛ, крайне немногочисленны и посвящены преимущественно хеликобактериозу и эрозивно-язвенным поражениям желудка и двенадцатиперстной кишки у данной категории пациентов [2–7].

В последние годы появились работы, в которых подчеркивается роль параэндокринных клеток (апудоцитов) гастроинтестинальной зоны, продуцирующих биогенные амины, на функцию не только органов пищеварения, но и дыхания. Однако данные работы носят или экспериментальный характер, или посвящены анализу параэндокринной системы при онкологической патологии легких и бронхиальной астме [8–10].

В то же время отсутствуют клинические данные по изучению морфометрических и функциональных

показателей энтероэндокринных клеток и их взаимосвязей с функциональным состоянием легких у больных ХОБЛ.

Наиболее обоснованными для изучения следует считать возможные корреляционные взаимосвязи между морфофункциональными параметрами серотонинпродуцирующих (*Ecн*-клеток) гастроинтестинальной зоны и бронхолегочными показателями, т. к. именно серотонин в больших количествах обнаружен в других внутренних органах, в т. ч. в легких [11, 12].

Целью настоящей работы было установление характера и тяжести поражения параэндокринной системы гастроинтестинальной зоны у пациентов с различными стадиями ХОБЛ.

Материалы и методы

Проведено одномоментное рандомизированное открытое контролируемое исследование морфофункциональных показателей апудоцитов (*Ecн*-клеток) гастроинтестинальной зоны, уровня серотонинемии

и показателей функции внешнего дыхания (ФВД) у пациентов с ХОБЛ ($n = 84$).

Первую группу сравнения составили пациенты с ХОБЛ легкой и средней тяжести (медиана возраста 58,5 (53,0–61,7) года). Для сравнительного анализа показателей у больных данной группы была сформирована контрольная группа практически здоровых лиц ($n = 40$) (1-я контрольная группа).

Учитывая значительные возрастные особенности больных с тяжелым течением ХОБЛ (медиана возраста 60,5 (58,2–64,7) года), для данных пациентов была сформирована дополнительная контрольная группа ($n = 10$) из практически здоровых лиц, не имевших достоверных возрастных и половых различий с данными пациентами (2-я контрольная группа).

Для определения тяжести течения ХОБЛ проводилось общеклиническое исследование с определением стажа курения, анализом характера и выраженности одышки, характера и продолжительности кашля, а также данных инструментального исследования функции дыхания. Оценка степени ограничения воздушного потока (степени тяжести ХОБЛ) проводилась путем расчета постбронходилатационного объема форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁) в соответствии со спирометрической классификацией (GOLD, 2011): GOLD I – легкая (ОФВ₁ ≥ 80 %_{долж.}); GOLD II – средней тяжести, 50–80 %_{долж.}; GOLD III – тяжелая (30–50 %_{долж.}); GOLD IV – крайне тяжелая (ОФВ₁ < 30 %_{долж.}). Постбронходилатационные значения теста Тиффно (отношение ОФВ₁ к показателю форсированной жизненной емкости легких – ФЖЕЛ) $< 0,70$ (70%) на всех стадиях заболевания [13].

Количественная оценка одышки у больных ХОБЛ проводилась во время повседневной активности по шкале *Medical Research Council Dyspnea Scale* (MRC). Градации данной шкалы – 0–4 балла: 0 баллов – одышка не беспокоит, за исключением очень интенсивной нагрузки; 1 балл – одышка при быстрой ходьбе; 2 балла – одышка заставляет более медленно идти по сравнению с другими людьми того же возраста; 3 балла – одышка заставляет больного делать остановки при ходьбе на расстоянии ≈ 100 м; 4 балла – одышка при минимальной физической активности [14].

Инструментальное исследование ФВД проводилось с помощью анализа кривой "поток–объем" на аппарате *Micro Medical Limited PO Box 6 Rochester Kent England ME1 2AZ* и программы бодиплетизмографии с использованием оборудования *Masterscreen* (*Erich Jaeger*, Германия).

При оценке результатов бодиплетизмографии и спирометрии оценивались показатели: ФЖЕЛ, ОФВ₁, ОФВ₁ / ФЖЕЛ, общая емкость легких (ОЕЛ), остаточный объем легких (ООЛ), емкость вдоха, резервный объем выдоха и показатели диффузионной способности легких с помощью методики "Одиночный вдох" [15]. Перед исследованием пациент не курил в течение 2 ч, находился в состоянии покоя в течение 20 мин, не принимал пищу в течение 3 ч до

исследования и не использовал ингаляционные средства в течение последних 12 ч. Проводилось ≥ 3 исследований (коэффициент варируемости ≤ 10 %). Интервал между пробами составлял 5 мин. В протокол заносились средние значения. Полученные данные сопоставляли с должными величинами, рассчитанными по формуле Европейского сообщества стали и угля [16].

Уровень серотонина в сыворотке крови определялся методом иммуноферментного анализа (сэндвич-метод). Исследование проводилось натощак в 9:00 утра через 12 ч после последнего приема пищи (сок, чай, кофе, сахар исключались за 3 дня до исследования). Референсные значения: 1,8–7,5 нг / мл.

Гистологический анализ биоптатов слизистой желудка и тонкой кишки проведен у больных ХОБЛ ($n = 84$) и, наряду с обзорным морфологическим исследованием, включал иммуногистохимическое (ИГХ) (морфометрическое и морфофункциональное) изучение апудоцитов с определением показателя статистической плотности (N / мл) и оптической плотности (усл. ед.) *Ecn*-клеток.

Для ИГХ-исследования использовались моноклональные мышинные античеловеческие антитела к серотонину (клон 5HT-H209) (*Дакко*, Дания) по стандартному протоколу. Подсчет количества серотонин-положительных клеток и их оптической плотности проводился с использованием программного обеспечения анализа изображения "Видеотест-морфология 5.2"

Критерии включения пациентов в основную группу:

- наличие в анамнезе курения > 10 пачко-лет;
- наличие жалоб на кашель и экспираторную одышку в течение 3 лет;
- наличие аускультативных признаков обструктивного синдрома (сухие свистящие хрипы);
- ХОБЛ I–III стадии по GOLD.
- фаза стабильного течения ХОБЛ (≥ 4 нед. после завершения предшествующего обострения).

Критерии исключения пациентов из исследования:

- возраст старше 65 лет;
- другие заболевания легких (рак легких, туберкулез, бронхиальная астма, пневмония, саркоидоз);
- ХОБЛ в стадии обострения;
- ХОБЛ крайне тяжелой стадии (GOLD IV), при которой проведение плановой гастродуоденоскопии с биопсией слизистой оболочки затруднено из-за тяжелой дыхательной недостаточности;
- противопоказания к лучевой нагрузке.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета прикладных программ *Statistica 6.0*. Статистическая значимость различий между 2 выборками определялась с использованием t-критерия Стьюдента (для параметрических параметров) и U-критерия Манна–Уитни (для непараметрических показателей). Сравнение групп по качественному признаку проведено с применением метода χ^2 по Пирсону. Критический уровень статистической значимости (p) принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

В результате исследования показано, что даже при легком течении ХОБЛ, характеризующемся незначительными спирометрическими и изменениями остаточных объемов при бодиплетизмографии, наблюдаются гиперсеротонинемия и морфофункциональные изменения энтероэндокринной системы.

При анализе серотонинемии в общей группе больных ХОБЛ ($n = 84$) и у пациентов 2 контрольных групп ($n = 50$) выявлена прямая положительная тесная ($r = 0,747$) и достоверная корреляционная связь ($p < 0,001$).

В группах больных ХОБЛ достоверно различались медианы по уровню серотонина сыворотки крови, которые четко зависели от тяжести заболевания: чем тяжелее стадия ХОБЛ, тем выше уровень серотонинемии (табл. 1).

Рассмотрение связей показателей серотонина сыворотки с данными спирометрии и бодиплетизмографии заслуживает подробного обсуждения. Данные по исследованию корреляционных взаимосвязей между отдельными показателями остаточных объемов легких, диффузионной способностью легких и уровнем серотонинемии представлены в табл. 2.

Наиболее тесная корреляционная связь отмечена между уровнем серотонинемии и показателями бронхообструктивного синдрома ОФВ₁ и ОФВ₁ / ФЖЕЛ: $r = -0,600$ и $-0,506$; $p = 0,006$ и $0,005$ соответственно, т. е. повышение уровня серотонинемии сопровождалось понижением показателей ОФВ₁ и ОФВ₁ / ФЖЕЛ.

В результате анализа параметров бодиплетизмографии выявлена достоверная обратная корреля-

ционная связь между уровнем серотонина крови и ДСЛ_{зд} ($r = -0,334$; $p = 0,002$), что, возможно, свидетельствует об определенном вкладе гиперсеротонинемии в повышении тонуса легочных артериол и нарушении газообмена у данных пациентов.

Учитывая полученные данные о повышении уровня серотонинемии у пациентов с ХОБЛ, дополнительно изучено морфофункциональное состояние серотонинпродуцирующих энтероэндокриноцитов (*Есн*-клеток).

ИГХ-реакция для определения серотонинпродуцирующих апудоцитов (*Есн*-клеток) гастроинтестинальной зоны была проведена у пациентов ($n = 34$) с ХОБЛ различной степени тяжести.

В группе больных ХОБЛ легкой степени ($n = 12$) *Есн*-клетки имели удлинненную форму и определялись в базальной части собственной пластинки слизистой. Визуализировались единичные дегранулированные клетки с обильной зернистостью цитоплазмы (рис. 1).

При утяжелении ХОБЛ в группах больных средней тяжести ($n = 12$) и тяжелым течением заболевания ($n = 10$) достоверного изменения плотности *Есн*-клеток не зафиксировано ($p > 0,05$), однако значительным было увеличение количества дегранулированных клеток с выходом гранул в межклеточное пространство. Клетки были овально-треугольной и удлинненной формы с плотно расположенными гранулами в цитоплазме. Клетки располагались диффузно по всей поверхности собственной пластинки слизистой оболочки (рис. 2).

При расчете средних показателей оптической плотности *Есн*-клеток в слизистой оболочке тонкой

Таблица 1
Серотонинемия в исследуемых группах; Ме (25–75)

	GOLD I, n = 28	GOLD II, n = 28	GOLD III, n = 28	Контрольная группа	
	1	2	3	1-я, n = 40	2-я, n = 10
				4	5
Уровень серотонина, нг / мл	89,45 (86,3–132,5)	90,75 (68,3–144,9)	198,7 (78,0–304,3)	23,65 (13,62–42,6)	15,6 (8,6–19,2)

Примечание: $p_{1,2} = 0,915$; $p_{1,3} < 0,001$; $p_{1,4} < 0,001$; $p_{2,3} < 0,001$; $p_{2,4} < 0,001$; $p_{3,5} < 0,001$.

Таблица 2
Корреляционные связи между показателями ФВД и уровнем серотонинемии в общей группе больных ХОБЛ

Показатели ФВД	Серотонинемия, n = 84	
	r	p
ОЕЛ, %	0,110	0,318
ООЛ, %	0,300	0,006
Внутригрудной объем, %	0,223	0,04
ДСЛ _{зд} , %	0,334	0,002
ДСЛ _{зд} / АВ	-0,223	0,03
ОФВ ₁ , л	-0,600	0,006
ОФВ ₁ / ФЖЕЛ	-0,506	0,005

Примечание: r – сила корреляции; ДСЛ_{зд} – диффузионная способность легких при задержке дыхания; АВ – альвеолярная вентиляция.

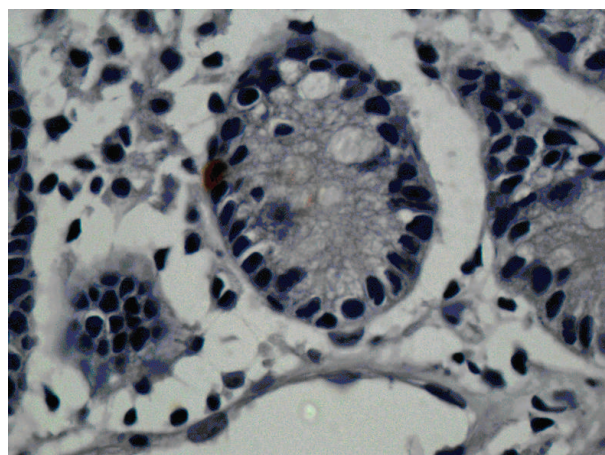


Рис. 1. Пациентка Ш. 53 лет (ХОБЛ, GOLD I). *Есн*-клетка с локализацией в крипте: фаза синтеза и накопления биологически активных веществ. ИГХ-реакция; $\times 400$

Морфометрические показатели *Есп*-клеток гастроинтестинальной зоны у больных ХОБЛ

Стадия ХОБЛ по GOLD	Тонкая кишка		Антральный отдел желудка	
	Показатель статической плотности <i>Есп</i> -клеток на N / мм ²	Оптическая плотность, усл. ед.	Показатель статической плотности <i>Есп</i> -клеток, N / мм ²	Оптическая плотность, усл. ед.
I	17,24 ± 3,48	0,44 ± 0,02*	24,06 ± 3,12	0,41 ± 0,02
II	18,04 ± 8,94	0,35 ± 0,02*	14,07 ± 7,79	0,34 ± 0,01
III	16,10 ± 5,78	0,28 ± 0,04*	10,27 ± 4,53	0,33 ± 0,02

Примечание: достоверные отличия между группами ($p < 0,05$).

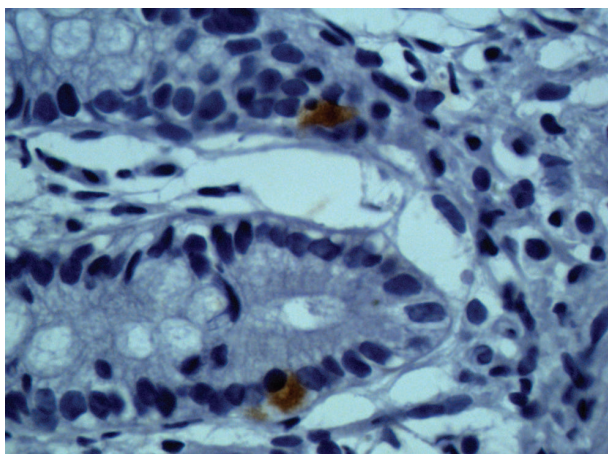


Рис. 2. Пациент Ю. 60 лет (ХОБЛ, GOLD II). *Есп*-клетки локализованы в базальных отделах крипты. Обнаруживаются клетки с признаками разной функциональной активности. Одна клетка в фазе синтеза и накопления секреторных гранул, 2-я – в фазе дегрануляции и выброса биологически активных веществ во внеклеточное пространство. ИГХ-реакция; $\times 400$

кишки было выявлено, что количественный показатель оптической плотности эндокриноцитов снижается в зависимости от тяжести заболевания ($p < 0,05$). Можно предположить, что данный феномен связан с дегрануляцией *Есп*-клеток и выбросом медиатора в ответ на повреждение (табл. 3).

Заключение

Прогрессирование хронической дыхательной недостаточности у больных ХОБЛ сопровождается морфометрическими и морфофункциональными изменениями апудоцитов гастроинтестинальной зоны.

Выявленные тесные корреляционные связи между показателями ФВД, остаточными объемами легких и функциональной активностью энтероэндокринной системы, а также уровнем серотонина крови у больных ХОБЛ свидетельствуют о роли гиперсеротонинемии в развитии бронхообструктивного синдрома; данные показатели следует рассматривать как факторы риска прогрессирования заболевания.

Литература / References

1. Todea D. Gastroesophageal reflux in COPD patients. Eur. Respir. J. 2006; 28 (Suppl. 50): 1002.
2. Чучалин А.Г. Хроническая обструктивная болезнь легких и сопутствующие заболевания. Терапевтический архив. 2008; 8: 45–50. / Chuchalin A.G. Chronic obstructive pulmonary disease and comorbidity. Terapevticheskiy arkhiv. 2008; 8: 45–50 (in Russian).

3. Козлова И.В., Чумак Е.П. Поражение желудка и двенадцатиперстной кишки при хронической обструктивной болезни легких: механизмы развития, особенности клиники и диагностики. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2008; 11: 67–71. / Kozlova I.V., Chumak E.P. Gastric and duodenal disease in chronic obstructive pulmonary disease: mechanisms, clinical features and diagnosis. Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii. 2008; 11: 67–71 (in Russian).
4. Клестер Е.Б. Хроническая обструктивная болезнь легких и сочетанная патология. Проблемы клинической медицины 2008; 2: 76–80. / Klester E.B. Chronic obstructive pulmonary disease and comorbidity. Problemy klinicheskoy meditsiny. 2008; 2: 76–80 (in Russian).
5. Christensen S., Thomsen R.W., Sorensen H.T. Impact of Chronic obstructive pulmonary disease on outcome among patients with complicated peptic ulcer. Chest. 2008; 133 (6): 1360–1366.
6. Kanbay M., Gur G., Akcay S., Yilmaz U. Helicobacter pylori seroprevalence in patients with chronic bronchitis. Respir. Med. 2005; 99: 1213–1216.
7. Tullerton D., Britton J.R., Lenis S.A. et al. Helicobacter pylori and lung function, asthma atopy and allergic disease population-based cross-sectional study in adults. Int. J. Epidemiol. 2009; 38 (2): 419–426.
8. Кузубова Н.А., Чухловин А.Б., Морозова Е.Б., Толоян А.А. Функциональные варианты генов MMP-1, MMP-3, ACE-1 и 5-НТТ при хронической обструктивной болезни легких. Молекулярная медицина 2009; 2: 12–16. / Kuzubova N.A., Chukhlovin A.B., Morozova E.B., Totolyan A.A. Functional variants of MMP-1, MMP-3, ACE-1 and 5-NTT genes in chronic obstructive pulmonary disease. Molekulyarnaya meditsina. 2009; 2: 12–16 (in Russian).
9. Смирнова М.А., Федоров В.Н., Мозжухина Л.И., Шубина Е.В. Особенности биоаминового статуса при бронхиальной астме у детей раннего и дошкольного возраста. Педиатрическая фармакология. 2010; 5: 94–96. / Smirnova M.A., Fedorov V.N., Mozhukhina L.I., Shubina E.V. Bioamine status in infants and preschool children with asthma. Peditricheskaya farmakologiya. 2010; 5: 94–96 (in Russian).
10. Lechin F., van der Dijs B., Lechin A.E. Severe asthma and plasma serotonin [letter]. Allergy. 2002; 57: 258–259.
11. Латфуллин И.А., Артемьева Е.Г. Реактивность бронхов и биоамины слизистой оболочки как критерий хронизации острого бронхита. Терапевтический архив. 2002; 11: 77–79. / Latfullin I.A., Artemieva E.G. Bronchial reactivity and bioamines of mucosa as criteria of chronic bronchitis. Terapevticheskiy arkhiv. 2002; 11: 77–79 (in Russian).

12. *Геренг Е.А., Суходоло И.В.* Структурно-функциональная организация клеток диффузной эндокринной системы в дыхательных путях в норме и при патологии. Бюллетень сибирской медицины 2008; 1: 71–75. / Gereng E.A., Sukhodolo I.V. Structural and functional regulation of diffuse endocrine system cells in airways in healthy and pathology. Byulleten' sibirskoy meditsiny. 2008; 1: 71–75 (in Russian).
13. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2011 г.): Пер. с англ. под ред. А.С.Белевского. М.: РРО; 2012. / Global Strategy of Diagnosis, Treatment and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (updated 2011). Belevskiy A.S. (editor of Russian Version). Moscow: Russian Respiratory Society; 2012 (in Russian).
14. *Чучалин А.Г.* Хроническая обструктивная болезнь легких: Клинические рекомендации. М.: Атмосфера; 2007. / Chuchalin A.G. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Clinical Guidelines. Moscow: Atmosfera; 2007 (in Russian).
15. *Баур К., Прейссер А.*, ред. Бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких: Руководство. И.В.Лешенко (пер.); А.Г.Чучалин (авт. предисл.). М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010. / Baur K., Preisser A., eds. Bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease; handbook. I.V.Leshchenko (translator); A.G.Chuchalin (author of preface). Moscow: GEOTAR-Media; 2010 (in Russian).
16. *Cotes J.E., Chinn D.J., Quanier P.H. et al.* Standardization of the Measurement of Transfer Factor (Diffusing Capacity). Eur. Resp. J. 1993; 6: 41–52.

Информация об авторах

Камалова Любовь Михайловна – врач-пульмонолог, зав. терапевтическим отделением № 2 МАУ "Городская клиническая больница № 40", соискатель кафедры внутренних болезней, эндокринологии ФГБУ "Уральский государственный медицинский университет" Минздрава России, Екатеринбург; тел.: (343) 266-95-77; e-mail: kamalowa@gkb40.ur.ru

Лисовская Татьяна Валентиновна – д. м. н., ведущий научный сотрудник ФГБУ "Уральский НИИ охраны материнства и младенчества" Минздрава России, Екатеринбург; тел.: (343) 371-00-78; e-mail: tv.lis@mail.ru

Медведева Светлана Юрьевна – к. м. н., ведущий научный сотрудник ФГБУН "Институт иммунологии, физиологии Уро РАН", Екатеринбург; тел.: (343) 374-00-70; e-mail: omella@yandex.ru

Поступила 31.01.14

© Коллектив авторов, 2014

УДК 616.233-002.2-07:616.34-091