

## 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 (ОФВ<sub>1</sub>) в соответствии со спирометрической классификацией (GOLD, 2011): GOLD I – легкая (ОФВ<sub>1</sub>  $\geq 80$  %<sub>долж.</sub>); GOLD II – средней тяжести, 50–80 %<sub>долж.</sub>; GOLD III – тяжелая (30–50 %<sub>долж.</sub>); GOLD IV – крайне тяжелая (ОФВ<sub>1</sub>  $< 30$  %<sub>долж.</sub>). Постбронходилатационные значения теста Тиффно (отношение ОФВ<sub>1</sub> 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  $\approx 100$  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, ОФВ<sub>1</sub>, ОФВ<sub>1</sub> / 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  $\geq 3$  исследований (коэффициент варируемости  $\leq 10$  %). 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 ( $\geq 4$  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  $\chi^2$  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  $ОФВ_1$  и  $ОФВ_1 / ФЖЕЛ$ :  $r = -0,600$  и  $-0,506$ ;  $p = 0,006$  и  $0,005$  соответственно, т. е. повышение уровня серотонинемии сопровождалось понижением показателей  $ОФВ_1$  и  $ОФВ_1 / ФЖЕЛ$ .

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 повышение 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 удлинённую 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 удлинённой 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.

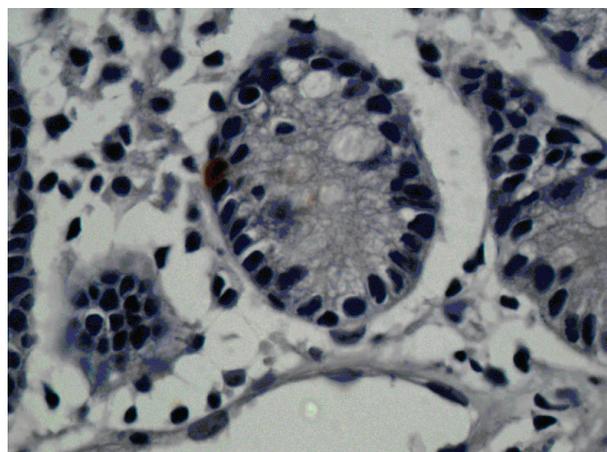


Рис. 1. Пациентка Ш. 53 лет (ХОБЛ, GOLD I). *Есн*-клетка с локализацией в крипте: фаза синтеза и накопления биологически активных веществ. ИГХ-реакция;  $\times 400$

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 <sup>2</sup>	Оптическая плотность, усл. ед.	Показатель статической плотности <i>Есп</i> -клеток, N / мм <sup>2</sup>	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 ( $p < 0,05$ ).

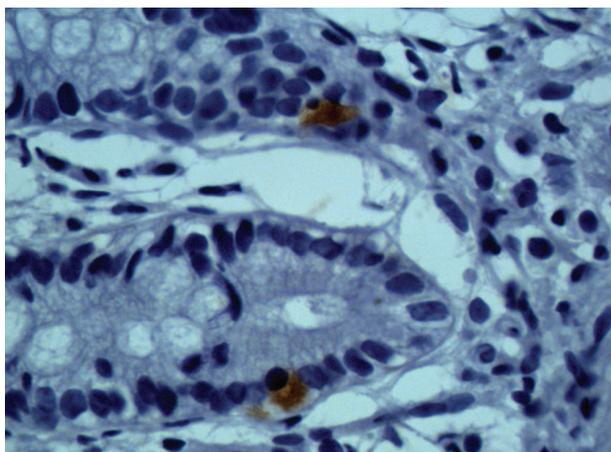


Рис. 2. Пациент Ю. 60 лет (ХОБЛ, GOLD II). *Есп*-клетки локализованы в базальных отделах крипты. Обнаруживаются клетки с признаками разной функциональной активности. Одна клетка в фазе синтеза и накопления секреторных гранул, 2-я – в фазе дегрануляции и выброса биологически активных веществ во внеклеточное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