© Коллектив авторов, 2018
УДК 616.34-007.64
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13110>
ISSN – 2073-8137

ДИВЕРТИКУЛЯРНАЯ БОЛЕЗНЬ ТОЛСТОЙ КИШКИ: КЛИНИКО-ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ И ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ

А. А. Свистунов¹, М. А. Осадчук¹, Н. В. Киреева¹, А. М. Золотовицкая¹,
А. Е. Лазарева¹, Д. А. Шорина¹, Н. И. Антоненко¹, М. М. Осадчук²

¹ Первый Московский государственный медицинский университет
им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия

² Городская поликлиника № 52, Москва, Россия

DIVERTICULAR DISEASE OF THE COLLON: CLINIC-INSTRUMENTAL AND IMMUNOMORPHOLOGICAL PARALLELS

Swistunov A. A.¹, Osadchuk M. A.¹, Kireeva N. V.¹, Zolotovitskaya A. M.¹,
Lasareva A. E.¹, Shorina D. A.¹, Antonenko N. I.¹, Osadchuk M. M.²

¹ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenovskiy University), Russia

² City Polyclinic № 52, Moscow, Russia

Дивертикулярная болезнь толстой кишки с учетом увеличения доли пожилых людей в общей численности населения планеты относится к наиболее важным проблемам современного здравоохранения в связи с необходимостью постоянного наблюдения за пациентами из-за возможного развития осложнений в виде дивертикулита, перфорации, кровотечения и малигнизации. С этих позиций становится актуальной выработка ранних прогностических критериев течения дивертикулярной болезни толстой кишки на основе изучения основных показателей пролиферации, таких как Kisspeptin (KiSS1), p53, хромогранин-А (CgA).

Ключевые слова: дивертикулярная болезнь толстой кишки, кисспептин, p53, хромогранин-А

Diverticular colon disease, taking into account the increase in the proportion of older people in the total population of the planet, is one of the most important problems of modern health care, due to the need for constant monitoring of patients due to the possible development of complications such as diverticulitis, perforation, bleeding and malignancy. From these positions, it becomes relevant to develop early prognostic criteria for the severity of the diverticular colon disease based on the study of the main indicators of proliferation, such as Kisspeptin (KiSS1), p53, chromogranin-A (CgA).

Keywords: diverticular colon disease, kisspeptin, p53, chromogranin-A

Для цитирования: Свистунов А. А., Осадчук М. А., Киреева Н. В., Золотовицкая А. М., Лазарева А. Е., Шорина Д. А., Антоненко Н. И., Осадчук М. М. ДИВЕРТИКУЛЯРНАЯ БОЛЕЗНЬ ТОЛСТОЙ КИШКИ: КЛИНИКО-ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ И ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2018;13(4):585-588. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13110>

For citation: Swistunov A. A., Osadchuk M. A., Kireeva N. V., Zolotovitskaya A. M., Lasareva A. E., Shorina D. A., Antonenko N. I., Osadchuk M. M. DIVERTICULAR DISEASE OF THE COLLON: CLINIC-INSTRUMENTAL AND IMMUNOMORPHOLOGICAL PARALLELS. *Medical News of North Caucasus*. 2018;13(4):585-588. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13110> (In Russ.)

ГЭРБ – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь
ДБТК – дивертикулярная болезнь толстой кишки
ДБТКдив – дивертикулярная болезнь толстой кишки, осложненная дивертикулитом
ДБТКсиг – дивертикулярная болезнь толстой кишки с локализацией дивертикулов в сигмовидной кишке
ДБТКсиг+ – дивертикулярная болезнь толстой кишки с локализацией дивертикулов в сигмовидной и ободочной кишке
ДБТКсиг+ – дивертикулярная болезнь толстой кишки с локализацией дивертикулов в сигмовидной, ободочной и слепой кишке

ЖКБ – желчнокаменная болезнь
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ИМТ – индекс массы тела
КП – кисспептины
НЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени
НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты
СД – сахарный диабет
СОТК – слизистая оболочка толстой кишки
СРКз – синдром раздраженного кишечника с запором
CgA – хромогранин

Дивертикулярная болезнь толстой кишки (ДБТК) в настоящее время относится к наиболее значимым проблемам современной здравоохранения. Данная патология является шестой наиболее распространенной среди заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) у амбулаторных больных и третьей причиной госпитализации в США с оценочной стоимостью 2,6 млрд долларов в год [1, 2]. В связи с этим большое значение приобретает изучение регуляторов пролиферации, чтобы определить общие и частные механизмы возникновения и прогрессирования патологии у лиц с ДБТК.

К числу значимых научных открытий последних лет относится установление роли лиганд-рецепторной системы кисспептинов (КП) в регуляторных процессах гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. Она включает ген *kiss1*, расположенный на 1q32, его продукты – КП, и рецептор GPR54. При этом КП относятся к семейству пептидов, кодируемых геном *kiss1*. Продуктом данного гена выступает гидрофобный белок, состоящий из 145 аминокислот и относящийся к предшественнику метастатина [3]. Белок и его короткие пептиды (10, 13 и 14 аминокислоты) и называются КП.

Из периферических органов, клетки которых синтезируют КП, ключевыми являются половые железы, поджелудочная железа, печень, кишечник, аорта, коронарные артерии и вены пуповины [4, 5]. Приводятся данные о том, что КП-10, 13 и 54 могут быть новыми вазоконстрикторами у человека *in vivo*, так как все 3 пептида вызывают сужение сосудов при миографическом исследовании, их эффект сходен с влиянием ангиотензина II [6]. КП-10 является мощным вазоконстриктором и ингибитором ангиогенеза. Другим, не менее важным, маркером пролиферации является белок p53, который выполняет три основные функции: регуляцию клеточного цикла, индукцию апоптоза (в случаях, когда повреждения ДНК клетки не могут быть репарированы), стабилизацию генома. Нарушение регуляции клеточного цикла, связанное с изменением активности p53, ведет к развитию и прогрессированию злокачественного процесса. Мутации гена p53 сопровождаются «сверхэкспрессией» этого белка, иммуногистохимически выявляются с помощью анти-p53 антител. Считается, что иммуногистохимическая положительная реакция полностью зависит от наличия мутантного типа p53 [7]. Хромогранин относится к семейству нейроэндокринных секреторных белков и к наиболее часто используемому маркеру для определения колоректального рака. Тем не менее происхождение нейроэндокринных клеток, определяющих его продукцию в аденокарциноме, остается неизвестным [8, 9]. Кроме того, содержание хромогранина коррелирует с уровнем стресса [10], наличием и выраженностью аутоиммунного хронического гастрита, сопровождающегося нарушением пролиферации [11].

Цель исследования: определить роль клинико-эндоскопических и иммуноморфологических показателей у больных с ДБТК и дополнить ранние диагностические критерии прогрессирования структурных изменений слизистой оболочки толстой кишки (СОТК) у больных с данной патологией.

Материал и методы. Обследовано 120 больных с ДБТК. Пациенты были разделены на 4 группы: первую составили больные с локализацией дивертикулов в сигмовидной кишке (ДБТКсиг); вторую – с локализацией в сигмовидной и ободочной кишке (ДБТКсиг+обод); в третью вошли пациенты с локализацией дивертикулов в сигмовидной, ободочной и слепой кишках (ДБТКсиг+обод+слеп); в четвертую группу – больные

ДБТК, осложненной дивертикулитом (ДБТКдив). Группы сравнения составили 28 пациентов с синдромом раздраженного кишечника и запором (СРКз). ДБТК была верифицирована при наличии трех или более дивертикулов в толстой кишке (чаще в сигмовидной). Возраст больных с ДБТК колебался от 53 до 84 лет ($69,8 \pm 7,9$); возраст здоровых – от 27 до 78 лет ($46,1 \pm 4,5$). Среди больных с ДБТК мужчин было 40, женщин – 80. Больные и здоровые обследованы по единой программе, включающей клинические методы, колоноскопию, общее морфологическое, цитологическое и иммуногистохимическое исследования. Визуализацию толстой кишки проводили с помощью колоноскопа «Olympus-GF-40I» и набора инструментария к нему. Морфологический материал брался из средней трети сигмовидной кишки. Для иммуногистохимического окрашивания серийные парафиновые срезы толщиной 4–6 мкм помещали на предметные стекла, покрытые поли-L-лизинном. Исследования проводились на депарафинизированных и дегидратированных срезах с использованием авидин-биотинового иммунопероксидазного метода. Уровень экспрессии p53 определяли с помощью «DAKO», Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein (Clone DO-7), разведение 1:25, время инкубации 30 минут при комнатной температуре; для хромогранина-A (CgA) – «DAKO», Monoclonal Mouse Anti-Human Chromogranin A (Clone DAK-A3), разведение 1:200, время инкубации 1 час при комнатной температуре; для Kisspeptin – Anti-Kisspeptin antibody (ab19028), разведение 1:200, время инкубации 1 час при комнатной температуре. В качестве вторичных антител использовали антитела, конъюгированные с полимером, маркированным пероксидазой (универсальный набор DAKO EnVision TM + System). Визуализация окрасок базировалась на применении комплекса DAB+ и субстратного буфера.

Изучение препаратов осуществлялось на исследовательском микроскопе Nikon E400 с использованием камеры Nikon DXM 1200. Для оценки результатов иммуногистохимического окрашивания применяли морфометрическое исследование с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений «Морфология 5.2». В каждом случае анализировали 5 полей зрения при увеличении $\times 400$. Относительную площадь экспрессии рассчитывали как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения и выражали в процентах. Оптическую плотность экспрессии и среднюю яркость выявленных продуктов измеряли в условных единицах. Указанные параметры отражают интенсивность синтеза или накопления исследуемых молекул.

Математическая обработка результатов исследования проводилась с помощью статистического пакета программ «SPSS 11.0 for WINDOWS» на персональном компьютере IBM «Pentium-4».

Результаты и обсуждение. Клиническая картина ДБТК была в основном идентична симптоматике СРК и характеризовалась наличием у большинства больных запора, вздутия живота, болью по ходу толстого кишечника (табл.). Полученные данные подтверждают сложившуюся в литературе точку зрения на схожесть основных проявлений ДБТК и СРКз [12]. Вместе с тем у больных ДБТК имелись достоверные различия в массе тела, наличии кист в печени и почках, отклонения в ряде лабораторных показателей крови, таких как глюкоза, холестерин, аланиновая и аспарагиновая трансаминазы, что подчеркивает важную роль обменных процессов в генезе дивертикулеза толстой кишки. Обращает на себя внимание тот факт, что у пациентов с ДБТК чаще определялась геликобактерная инфекция, что дает основание для более углубленного исследования роли *H. pylori* в формировании дивертикулов толстой кишки.

Таблица
Клинико-анамнестические и лабораторные данные
больных с ДБТК и СРК

Клинические и анамнестические данные	ДБТК (n=120)	СРК с запором (n=28)
Наследственность по ДБТК	36 (30 %)*	4 (14,3)
Индекс массы тела	29,6±3,7*	26,5±1,6
Ишемическая болезнь сердца	93 (77,5 %)*	2 (7,1 %)
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	144,1±2,45*	128,3±2,32
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст.	95,9±2,56*	78,4±1,65
H. pylori	44 (36,7 %)*	7 (25 %)
ЖКБ	55 (45,8 %)*	3 (10,7 %)
НЖБП	86 (71,7 %)*	2 (7,1 %)
ГЭРБ	72 (60 %)*	11 (39,3 %)
СРК в анамнезе	50 (41,7 %)	–
Запор	93 (77,5 %)*	28 (100 %)
Боль по ходу толстого кишечника	91 (75,8 %)*	28 (100 %)
Вздутие живота	102 (85 %)	24 (85,7 %)
НПВП	83 (69,2 %)*	2 (7,1 %)
Дивертикулы в сигмовидной кишке	78 (65 %)	–
Дивертикулы в сигмовидной и ободочной кишках	33 (27,5 %)	–
Дивертикулы в сигме, ободочной и слепой кишках	9 (7,5 %)	–
Дивертикулит	7 (5,8 %)	–
Глюкоза, ммоль/л	6,3±0,34*	4,91±0,19
Холестерин, ммоль/л	5,64±0,68*	4,99±0,38
Кисты печени, %	72 (60 %)*	1 (3,6 %)
Кисты почек, %	41 (34,1) *	2 (7,1 %)
АЛАТ, Ед/л	29,9±2,3*	24,43±1,6
АСАТ, Ед/л	28,4±1,4*	24,70±1,2

*p<0,05 по сравнению с группой здоровых.

При сравнении интенсивности экспрессии KISS1R у больных с ДБТК обнаружили разную ее степень у больных в зависимости от распространенности дивертикулов в толстом кишечнике. Так, у больных с ДБТКсиг+обод+слеп уровень экспрессии KISS1R был достоверно меньше, чем в группе пациентов с ДБТКсиг и ДБТКсиг+обод (P<0,05; рис. 1). При осложнении ДБТК дивертикулитом отмечались самые низкие значения KISS1R. Известно, что Kisspeptins (КП) являются пептидами, которые ингибируют клеточную пролиферацию, инвазию, хемотаксис и метастазирование и могут использоваться в диагностическом плане для характеристики данных процессов [13]. Следовательно, можно предположить, что по мере распространенности патологического процесса с развитием осложнений ДБТК, таких как дивертикулит, содержание KISS1R уменьшается, что может приводить к развитию предраковых изменений в слизистой оболочке толстой кишки. Данная концепция подтверждается наличием достаточно высокой экспрессии p53 у больных с ДБТК, коррелирующей со степенью распространенности патологического процесса. Так, на основе изученного материала выявлено, что у пациентов с ДБТКсиг+обод+слеп экспрессия p53 была выше, чем у лиц с ДБТКсиг и ДБТКсиг+обод,

более чем в 1,5 раза, а у больных с дивертикулитом – больше почти в 2,0 раза (рис. 2). При этом следует подчеркнуть, что высокая частота мутаций p53 определяется и у пациентов с тяжелой формой неспецифического язвенного колита, у которых в момент исследования отсутствовали морфологические проявления рака кишечника [14, 15].

Рис. 1. Отрицательная экспрессия Kisspeptin1 при ДБТКсиг+обод+слеп, х400

Рис. 2. Положительная экспрессия p53 при ДБТК, х400

В исследовании CgA продемонстрировал достаточно высокую степень информативности в качестве биомаркера у пациентов с ДБТК. Так, экспрессия CgA в СОРК достоверно увеличивалась у больных с ДБТК, достигая максимума у лиц с ДБТКсиг+обод+слеп и при ее осложнении дивертикулитом. CgA, по некоторым данным, является наиболее часто используемым маркером нейроэндокринных клеток при опухолевых заболеваниях пищеварительного тракта [16]. В меньшей степени он может повышаться и при неопухолевых заболеваниях кишечника, тесно связанных с онкогенезом [17]. Таким образом, можно высказать мнение, что определение нейроэндокринных клеток, секретирующих CgA, может отражать последовательный ход событий при рассматриваемых патологических состояниях. При этом оптическая плотность экспрессии и средняя яркость выявленных продуктов пролиферации коррелировали с распространенностью дивертикулов в кишечнике и имели достоверные различия у пациентов с ДБТКсиг+обод+слеп и ДБТКдив, с одной стороны, и ДБТКсиг и ДБТКсиг+обод, с другой (p<0,05).

Проведенные исследования характеризуют важную роль клинических, анамнестических, инструментальных, лабораторных и иммуногистохимических исследований в диагностике и прогнозировании течения ДБТК. Изучаемые показатели KISS1R, p53 и CgA относятся к маркерам, регулирующим пролиферацию и апоптоз, и в полной мере отражают распространенность патологического процесса при ДБТК. Несмотря на высокую диагностическую значимость при опухолевых процессах в кишечнике, их можно использовать в прогнозировании течения при воспалительных и других процессах в пищеварительном тракте, что находит подтверждение в ряде работ [18].

Заключение. Таким образом, ДБТК с разной распространенностью патологического процесса имеет

как единые патогенетические механизмы, так и существенные отличия, касающиеся в основном таких иммуноморфологических показателей, как количественная характеристика нейроэндокринных клеток слизистой оболочки, секретирующих KISS1R, p53 и CgA. ДБТК является заболеванием, часто ассоциированным с выраженными изменениями метаболического характера (НЖБП, ЖКБ, СД, кисты печени, почек), что дает возможность рассматривать ее в контексте полиорганной патологии. С этих позиций, выявленные изменения в содержании пролиферативных показателей у больных с различной распространенностью патологического процесса в толстой кишке позволяют использовать их в диагностике и прогнозировании ДБТК.

Литература/References

1. Everhart J., Ruhl C. Burden of Digestive Diseases in the United States Part II: Lower Gastrointestinal Diseases. *Gastroenterology*. 2009;136(3):741-754. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.01.015>
2. Peery A. F., Sandler R. S., Ahnen D. J., Galanko J. A., Holm A. N. [et al.]. Constipation and a low-fiber diet are not associated with diverticulosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2013;11(12):1622-1627. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.06.033>
3. Lee J.-H., Miele M. E., Hicks D. J., Phillips K. K., Trent J. M., Weissman B. E., Welch D. R. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J. Nat. Cancer Ins.* 1996;88(23):1731-1737. <https://doi.org/10.1093/jnci/88.23.1731>
4. Castellano J. M., Gaytan M., Roa J., Vigo E., Navarro V. M. [et al.]. Expression of KiSS-1 in rat ovary: putative local regulator of ovulation? *Endocrinology*. 2006;147(10):4852-4862. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0117>
5. Mead E., Maguire J., Kuc R., Davenport A. Kisspeptins: a multifunctional peptide system with a role in reproduction, cancer and the cardiovascular system. *Br. J. Pharmacol.* 2009;151(8):1143-1153. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707295>
6. Mead E., Maguire J., Kuc R., Davenport A. Kisspeptins are novel potent vasoconstrictors in humans, with a discrete localization of their receptor, G protein-coupled receptor 54, to atherosclerosis-prone vessels. *Endocrinology*. 2007;148(1):140-147. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0818>
7. Колесник А. П. Прогностическое значение экспрессии p53 у больных с ранними стадиями немелкоклеточного рака легкого. *Онкология*. 2013;15(1):20-23. [Kolesnik A. P. Prognosticheskoye znachenie ekspressii p53 u bolnykh s rannimi stadiyami nemelkokletochnogo raka legkogo. *Onkologiya*. 2013;15(1):20-23. (In Russ.)].
8. Kleist B., Poetsch M. Neuroendocrine differentiation: The mysterious fellow of colorectal cancer. *World J. Gastroenterol.* 2015;21(41):11740-11747. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i41.11740>
9. Liu Y., He J., Xu J., Li J., Jiao Y. [et al.]. Neuroendocrine differentiation is predictive of poor survival in patients with stage II colorectal cancer. *Oncol. Lett.* 2017;13(4):2230-2236. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.5681>
10. Cai L., Kaneko S., Morita E. Changes in salivary chromogranin A levels in adults with atopic dermatitis are correlated with changes in their condition. *J. Dermatol.* 2018;45(5):554-559. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.14277>
11. Kalkan C., Karakaya F., Soykan I. Factors associated with elevated serum chromogranin A levels in patients with autoimmune gastritis. *The Turkish J. Gastroenterology*. 2016;27(6):515-520. <https://doi.org/10.5152/tjg.2016.16486>
12. Linnings C., Roth B., Erlanson-Albertsson C., Molin G., Toth E., Ohlsson B. Abundance of Enterobacteriaceae in the colon mucosa in diverticular disease. *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* 2018;9(1):18-27. <https://doi.org/10.4291/wjgp.v9.i1.18>
13. Huma T., Wang Z., Rizak J., Ahmad F., Shahab M., Ma Y., Yang S., Hu X. Kisspeptin-10 modulates the proliferation and differentiation of the rhesus monkey derived stem cell line: R366.4. *Sci. World J.* 2013;2013:1-7. <https://doi.org/10.1155/2013/135470>
14. Popp C., Nichita L., Voiosu T., Bastian A., Cioplea M. [et al.]. Expression Profile of p53 and p21 in Large Bowel Mucosa as Biomarkers of Inflammatory-Related Carcinogenesis in Ulcerative Colitis. *Dis. Markers*. 2016;2016:1-7. <https://doi.org/10.1155/2016/3625279>
15. Kobayashi K., Tomita H., Shimizu M., Tanaka T., Suzui N., Miyazaki T., Hara A. p53 Expression as a Diagnostic Biomarker in Ulcerative Colitis-Associated Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(6):1284. <https://doi.org/10.3390/ijms18061284>
16. El-Salhy M., Gilja O. Abnormalities in ileal stem, neurogenin 3, and enteroendocrine cells in patients with irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol.* 2017;17(1):90. <https://doi.org/10.1186/s12876-017-0643-4>
17. Mujagic Z., Jonkers D. M. A. E., Ludidi S., Keszthelyi D., Hesselink M. A. [et al.]. Biomarkers for visceral hypersensitivity in patients with irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterology & Motility*. 2017;29(12):e13137. <https://doi.org/10.1111/nmo.13137>
18. Eissa N., Hussein H., Kermarrec L., Ali A. Y., Marshall A. [et al.]. Chromogranin-A Regulates Macrophage Function and the Apoptotic Pathway in Murine DSS colitis. *J. Molec. Med.* 2017;96(2):183-198. <https://doi.org/10.1007/s00109-017-1613-6>

Сведения об авторах:

Свистунов Андрей Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, член-кор. РАН, первый проректор; тел.: 84956229808; e-mail: svistunov@sechenov.ru; eLibrary SPIN: 4042-9063, ORCID: 0000-0003-1592-5703

Осадчук Михаил Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой поликлинической терапии лечебного факультета; тел.: 89160712626; e-mail: policlinic_therapy@mail.ru; eLibrary SPIN: 3108-0478, ORCID: 0000-0003-0485-6802

Киреева Наталья Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент; тел.: 8916833787; e-mail: kireeva_nat@inbox.ru; eLibrary SPIN: 6814-1680, AuthorID: 717892, ORCID: 0000-0002-3467-886X

Золотовицкая Александра Михайловна, кандидат медицинских наук, ассистент; тел.: 89157777700; e-mail: alexandra@zolotovitskaya.ru

Лазарева Алиса Евгеньевна, ассистент; тел.: 89854757703; e-mail: lazarevalisa@rambler.ru; ORCID: 0000-0003-3590-5494

Шорина Дария Андреевна, ассистент; тел.: 89057715206; e-mail: shorina.dariya@mail.ru; ORCID: 0000-0003-0800-5853

Антоненко Николай Иванович, кандидат медицинских наук, доцент; тел.: 89096819883; e-mail: ni.antonenko@yandex.ru

Осадчук Максим Михайлович, кандидат медицинских наук, заведующий организационно-методическим отделом; тел.: 89854441411; e-mail: maxlife2004@mail.ru