

УДК 616.248:612.225:611-018.54(577.175.534+57.053.4)

РОЛЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИКЛИЧЕСКОГО АДЕНОЗИНМОНОФОСФАТА И КОРТИЗОЛА ПЛАЗМЫ КРОВИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ ХОЛОДОВОЙ БРОНХОКОНСТРИКЦИИ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ**А.Б.Пирогов, Д.Е.Наумов, Е.В.Ушакова***Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22***РЕЗЮМЕ**

Феномен холодной бронхиальной гиперреактивности представляет собой актуальную клиническую проблему, поскольку часто встречается у больных бронхиальной астмой, проживающих в холодных климатических условиях и является фактором формирования флюктуирующей бронхиальной обструкции. Однако его ранняя диагностика путем проведения холодной бронхопровокации часто невозможна ввиду технических ограничений или наличия медицинских противопоказаний. В этом случае могут быть полезны непрямые методы диагностики, основанные на определении биомаркеров, ассоциированных с холодной бронхоконстрикцией. Целью настоящего исследования было определить роль нарушений глюкокортикоидного гомеостаза и функциональной активности β_2 -адренорецепторного комплекса как предикторов холодной бронхиальной гиперреактивности у больных бронхиальной астмой. С помощью логистического регрессионного анализа было получено три математических модели, позволяющих производить прогнозирование с точностью до 83%. Приведена подробная сравнительная характеристика информационной ценности предложенных методов.

Ключевые слова: прогнозирование, холод, бронхиальная гиперреактивность, астма, кортизол, цАМФ, адренорецепция.

SUMMARY**PREDICTIVE ROLE OF CYCLIC ADENOSINEMONOPHOSPHATE AND PLASMA CORTISOL IN THE DEVELOPMENT OF COLD AIR INDUCED BRONCHOCONSTRICTION IN ASTHMATICS****A.B.Pirogov, D.E.Naumov, E.V.Ushakova***Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration of Siberian Branch RAMS, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

The phenomenon of cold bronchial hyperresponsiveness represents an urgent clinical problem because of its high prevalence in asthmatics living in cold climate conditions and ability to promote the development of fluctuating bronchial obstruction. However, often its early diagnostics by cold bronchoprovocation challenge is not possible due to the technical limitations or the presence of medical contraindications. In this

case indirect methods based on the detection of biomarkers associated with the development of cold bronchoconstriction may be useful. The aim of the present study was to examine the role of disturbance in glucocorticoid homeostasis and functional activity of β_2 -adrenergic receptor complex as the predictors of cold bronchial hyperresponsiveness in patients with bronchial asthma. Using logistic regression analysis we invented three mathematical models allowing to perform the forecast with the accuracy up to 83%. Detailed comparative characteristic of the diagnostic values has been provided for all the proposed methods.

Key words: prediction, cold, bronchial hyperresponsiveness, asthma, cortisol, cAMP, adrenergic reception.

В настоящее время феномен измененной реактивности бронхов на холодовой стимул, часто регистрируемый у больных бронхиальной астмой (БА), рассматривается в качестве одного из ведущих компонентов в формировании бронхообструктивного синдрома [3]. Чрезмерно выраженная реакция бронхов на холодовое воздействие имеет довольно сложный полипатогенетический механизм развития. Она во многом определяется не только характером и активностью воспалительного процесса в дыхательных путях, но и дисбалансом компонентов вегетативной нервной системы и эндокринного профиля в регуляции бронхиального тонуса. В настоящее время подчеркивается и существенная роль нарушений глюкокортикоидного гомеостаза и измененной функциональной активности β_2 -адренорецепторного комплекса (β_2 -АРК) дыхательных путей в моделировании воспалительных и не воспалительных компонентов патогенеза бронхиальной астмы [9, 10]. Установлено, что формирование холодной бронхиальной гиперреактивности (хБГР) у больных БА также ассоциируется со снижением показателей активированного β_2 -адренорецепторами синтеза циклического 3',5'-аденозинмонофосфата (цАМФ), наряду с уменьшением концентрации кортизола в плазме крови [2]. Принимая во внимание наличие взаимопотенцирующих влияний функциональной активности глюкокортикоидов и β_2 -АРК в формировании измененной реактивности дыхательных путей у больных БА, с большой степенью вероятности можно говорить об оправданности применения показателей функциональной активности β_2 -АРК и концентрации кортизола крови в качестве дифференциально-диагностического теста хБГР. Остается неясным вопрос о доказательстве приемлемости и эффективности использования указанных биологических маркеров хБГР в условиях клинического при-

менения в пульмонологической практике для корректной постановки диагноза, когда выполнение методики бронхоконстрикторной провокации затруднительно по техническим условиям, либо из-за тяжести заболевания. Подобные сведения в литературе ограничены.

Цель настоящего исследования состояла в определении информативности показателей зависящего от β_2 -адренорецепторов синтеза цАМФ в лимфоцитах и кортизола плазмы крови в качестве предикторов вероятности наличия хБГР у больных БА.

Материалы и методы исследования

В работе использованы данные клинико-лабораторных наблюдений за 68 больными БА (40 женщин и 28 мужчин) с неконтролируемым течением заболевания. Средний возраст обследованных составил $36,8 \pm 1,32$ лет. Диагностика проводилась согласно критериям Глобальной инициативы по бронхиальной астме [6]. Преобладали больные со смешанной формой астмы – 59 (87%) человек. По степени тяжести у 56 (82%) диагностирована легкая персистирующая, у 12 (18%) – среднетяжелая БА. Стаж заболевания от 7 месяцев до 12 лет. Пациенты не включались в исследование, если в период ремиссии или обострения заболевания получали ингаляционные глюкокортикостероиды (ГКС) в дозе ≥ 1000 мкг/сут (в эквиваленте беклометазона) или системные ГКС в парентеральной или таблетированной форме.

Обследование пациентов на 4-5 день пребывания в стационаре включало оценку функции внешнего дыхания по данным спирографических исследований на аппарате «Flowscreen» (Erich Jaeger, Германия) исходно и после бронхопровокационной пробы с 3-минутной изокапнической гипервентиляцией холодным воздухом (ИГХВ) по стандартной методике [1]. Положительная реакция на ИГХВ диагностировалась по снижению объема форсированного выдоха за 1-ю секунду ($ОФВ_1$) $\geq 10\%$ от исходной величины. Определение содержания базального кортизола плазмы крови (CORTISOL RIA) и функционального состояния β_2 -АРК дыхательных путей (RIA CYCLIC AMP) на мо-

дельной системе лимфоцитов периферической крови проводилось радиоиммунологическим методом, принимая во внимание определенное сходство фармакологических и функциональных свойств β_2 -адренорецепторов лимфоцитов и легких. Анализировался уровень лимфоцитарного синтеза цАМФ, стимулированного адреналином 10^{-6} М. Кровь (15 мл) на исследование брали из локтевой вены за 15 минут перед выполнением холодовой пробы в период с 8 до 10 часов утра.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием программы «IBM SPSS Statistics», версия 20 (IBM Corp., 2011). Достоверность различий между группами определяли с помощью непарного t-критерия Стьюдента. Для выявления взаимосвязи между изучаемыми переменными проводился расчет коэффициента корреляции (r) Пирсона. С целью создания классифицирующих моделей на основе избранных предикторов использовался математический аппарат логистической регрессии. Для определения качества полученных моделей и граничных значений вероятности проводился ROC-анализ. Диагностическая информативность показателей оценивалась на основании расчетов операционных характеристик: чувствительность, специфичность, точность, прогностичность положительного и отрицательного результатов, а также площадь под ROC-кривой.

Результаты исследования и их обсуждение

Измененная реактивность бронхов в ответ на холодовой стимул была выявлена у 37 (54%) больных (1 группа), снижение $ОФВ_1$ ($\Delta ОФВ_1$) составило в среднем $15,3 \pm 0,63\%$. 31 пациент с хБГР (46%) был отнесен во 2 группу ($\Delta ОФВ_1 = 5,32 \pm 0,40\%$).

В ходе статистического анализа (табл. 1) были установлены достоверные межгрупповые различия концентраций кортизола ($538,0 \pm 20,27$ и $704,6 \pm 25,27$ нмоль/л, для 1 и 2 групп соответственно; $p < 0,001$) и стимулированного адреналином синтеза цАМФ в лимфоцитах ($58,57 \pm 2,8$ и $75,19 \pm 3,02$ пмоль/ 10^6 кл. для 1 и 2 групп соответственно; $p < 0,001$).

Таблица 1

Межгрупповые различия концентраций кортизола и цАМФ у больных БА до и после выполнения холодовой бронхопровокационной пробы

Показатели	Группа 1	Группа 2	p
Кортизол (до холодовой пробы), нмоль/л	$538,0 \pm 20,27$	$704,6 \pm 25,27$	$< 0,001$
Кортизол (после холодовой пробы), нмоль/л	$502,5 \pm 24,05$	$663,2 \pm 24,73$	$< 0,001$
цАМФ (до холодовой пробы), пмоль/ 10^6 кл.	$58,57 \pm 2,8$	$75,19 \pm 3,02$	$< 0,001$
цАМФ (после холодовой пробы), пмоль/ 10^6 кл.	$52,50 \pm 3,16$	$74,30 \pm 3,33$	$< 0,001$

Изменения показателей в ответ на бронхопровокационную пробу также имели специфический характер, демонстрируя различную динамику в зависимости от того, развивалась холодовая бронхоконстрикция или

нет. У больных 1 группы отмечалось значимое снижение выработки цАМФ ($58,57 \pm 2,8$ и $52,50 \pm 3,16$ пмоль/ 10^6 кл.; $p < 0,05$), в то время как уровень цАМФ среди лиц 2 группы достоверно не изменялся. Не-

смотря на то, что имелась тенденция к снижению концентрации кортизола, достоверной динамики по этому параметру также не отмечалось.

Кроме того, были выявлены положительные корреляционные связи средней степени выраженности между измененными уровнями синтеза цАМФ и кортизола крови как в общей группе пациентов ($r=0,61$; $p<0,01$), так и среди пациентов 1 ($r=0,44$; $p<0,01$) и 2 групп ($r=0,39$ $p<0,01$).

В ходе логистического анализа были получены три регрессионных уравнения. Первое уравнение, включающее в качестве предиктора только показатель стимулированной концентрации цАМФ, имело вид:

$$F_1 = 6,66 - 0,09 \times \text{цАМФ}.$$

Во втором уравнении с целью классификации наблюдений использовалась переменная концентрации кортизола плазмы крови (КОРТ):

$$F_2 = 5,93 - 0,009 \times \text{КОРТ}.$$

Третье регрессионное уравнение сочетало указанные показатели:

$$F_3 = 8,92 - 0,07 \times \text{цАМФ} - 0,006 \times \text{КОРТ}.$$

Коэффициенты предикторов во всех трех уравнениях были значимы. Для расчета вероятности наличия хБГР использовалось уравнение логистической функции:

$$P = 1 / (1 + e^{-F}),$$

где e – основание натурального логарифма, приблизи-

тельно равное 2,718; F – значение, полученное решением регрессионного уравнения для каждого диагностического теста.

С использованием ROC-анализа были выбраны оптимальные значения отсечения вероятности P (0,58 – для первого, 0,59 – для второго, и 0,52 – для третьего уравнения), а также определена информативность предлагаемых диагностических тестов при выбранном значении отсечения. Оценивались показатели площади под ROC-кривыми, параметры чувствительности, специфичности, точности, прогностичности положительного и отрицательного результатов.

При проведении классификации пациентов 1 и 2 групп с использованием предложенных диагностических тестов были выявлены ошибки (ложноположительные и ложноотрицательные результаты). У больных 1 группы встречаемость ложноотрицательных случаев в тестах F_1 и F_2 составила 21,6% (8 из 37) и 18,9% (7 из 37), соответственно. Во 2 группе число ложноположительных результатов зарегистрировано в 32,2% (10 из 31) случаев для первого теста и 25,8% (8 из 31) – для второго. В несколько меньшей мере имели место ошибочные решения, принятые на основе уравнения F_3 : 13,5% (5 из 37) – в 1 группе, 19,4% (6 из 31) – во 2 группе. Числовые значения рассчитанных характеристик информативности приведены в таблице 2.

Таблица 2

Числовые значения характеристик информативности

Критерий	F_1	F_2	F_3
Чувствительность	78	81	86
Специфичность	68	74	80
Точность	74	78	83
Прогностичность положительного результата	74	79	84
Прогностичность отрицательного результата	72	77	83
Площадь под ROC	0,81±0,05	0,81±0,05	0,86±0,04

Ожидаемо, что комбинация критериев в третьем уравнении дает лучший результат, по сравнению с их изолированным использованием. Можно отметить среднее увеличение операционных характеристик на 8-10% по сравнению с первым диагностическим тестом, и на 4-6% – со вторым. При этом статистический тест сравнения площадей под ROC-кривыми не продемонстрировал их значимого отличия ($p>0,05$). Наблюдаемая ситуация обусловлена, прежде всего, определенной взаимосвязью между параметрами концентрации цАМФ и кортизола плазмы крови, о чем упоминалось выше. Корреляционная связь средней силы в рассмотренном случае не приводит к полной избыточности данных, что подтверждается значимостью регрессионных коэффициентов модели, однако реальную клиническую выгоду от использования третьего диагностического теста, несмотря на ее наличие, вряд ли можно назвать существенной. Таким об-

разом, можно говорить о существовании альтернатив при выборе диагностического теста в рамках подхода к прогнозированию вероятности хБГР у больных БА с использованием лабораторных параметров, отражающих функциональный статус β_2 -адренорецепции и гормонсинтетическую активность коры надпочечников. Полученное в результате вычислений значение P само по себе будет соответствовать вероятности развития бронхоспазма при ИГХВ, однако регистрация величин выше или ниже приведенных граничных величин будет свидетельствовать о повышенном или сниженном риске формирования хБГР. Это существенно, если полученная вероятность находится в области «серой зоны» (значения, близкие к 0,5) и принять решение о классификации, основываясь только на субъективной интерпретации показателя, невозможно.

Взаимосвязь активности β_2 -адренорецепторной и глюкокортикоидной систем на сегодняшний день пред-

ставляет экспериментально доказанный факт и широко используется при формировании схем фармакотерапии БА. Показано, что использование комбинаций длительнодействующих β_2 -агонистов с ингаляционными ГКС имеет больший терапевтический эффект по сравнению с монотерапией ингаляционными ГКС в высоких дозах [7]. Стероиды уменьшают потенциал для развития десенситизации и увеличивают экспрессию β_2 -адренорецепторов, в то время как β_2 -агонисты стимулируют неактивные глюкокортикоидные рецепторы, вызывая их миграцию из цитоплазмы в ядро клетки, что влечет широкий спектр биологических эффектов, включающих, прежде всего, расслабление гладкой мускулатуры бронхиального дерева и уменьшение явлений воспаления [5]. С этих позиций, полученные данные дополняют имеющиеся сведения о роли недостаточно результативной перестройки адаптивных реакций коры надпочечников в условиях десенситизации β_2 -АРК при формировании хБГР у больных с неконтролируемым течением БА. Исходно более высокая реакционная способность β_2 -АРК и нормальная функция коры надпочечников у больных II группы вносит свой вклад в формирование механизмов срочной адаптации, адекватной уровню нарушения температурного гомеостаза. В то же время, сниженный уровень стимулированного цАМФ и кортизола в I группе предрасполагает таких больных к избыточному реагированию за счет нарушения базального адренергического контроля тонуса гладкой мускулатуры дыхательных путей и большей интенсивности фонового воспалительного процесса. Несмотря на то, что точные механизмы этого явления не установлены, в условиях холодового воздействия активируется синтез и выброс уже накопленных воспалительных медиаторов (биогенные амины, интерлейкины, лейкотриены и др.) клетками эпителия дыхательных путей и иммунокомпетентными клетками респираторного тракта [4, 8], в результате чего активируются процессы перекисного окисления, нарушается структура плазматических мембран и усугубляется десенситизация β_2 -адренорецепторов, локализованных на гладкомышечных клетках. Это согласуется с наблюдаемым снижением реакции стимулированного синтеза цАМФ после холодовой гипервентиляции у больных I группы. Снижение концентрации кортизола в плазме крови, вероятно, являлось следствием его потребления тканями, при этом активации процессов синтеза за период наблюдения, по-видимому, не происходило.

Выводы

1. В нашем исследовании у больных БА с гиперреактивностью бронхов к холодовому стимулу была установлена роль нарушения чувствительности β_2 -адренорецепторов и снижения биосинтеза кортизола в формировании холодового бронхоспазма. Кроме того, выявлена определенная взаимосвязь между показателями десенситизации β_2 -АРК и концентрацией ГКС крови, в большей степени характерная для феномена хБГР.

2. Оба лабораторных показателя, исследованные в настоящей работе, имеют свойство различаться у больных БА с хБГР и без неё, что дает возможность использования их в качестве факторов прогноза. Для прогнозирования бронхиальной гиперреактивности холодовой природы созданы три математические модели на основе аппарата логистического регрессионного анализа. Показатели диагностических характеристик предложенных тестов дают основание говорить об их взаимозаменяемости и возможности выбора стимулированного через β_2 -адренорецепторы синтеза цАМФ в лимфоцитах или концентрации кортизола крови как предикторов вероятности формирования хБГР у больного БА в зависимости от возможностей лаборатории.

ЛИТЕРАТУРА

1. Перельман Ю.М., Приходько А.Г. Методика комбинированной диагностики нарушений кондиционирующей функции и холодовой гиперреактивности дыхательных путей // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2002. Вып.12. С.22–28.
2. Влияние функционального состояния надпочечников и бета-адренергической рецепции на реактивность дыхательных путей при частично-контролируемой бронхиальной астме / А.Б. Пирогов [и др.] // Сибирский консилиум. 2007. Т.62, №7. С.128–129.
3. Приходько А.Г., Колосов А.В. Особенности холодовой реактивности дыхательных путей при болезнях органов дыхания // Пульмонология. 2008. №1. С.69–74.
4. Anderson S.D., Kippelen P. Airway injury as a mechanism for exercise-induced bronchoconstriction in elite athletes // J. Allergy Clin. Immunol. 2008. Vol.122, №2. P.225–235.
5. Barnes P.J. Scientific rationale for inhaled combination therapy with long-acting β_2 -agonists and corticosteroids // Eur. Respir. J. 2002. Vol.19, №1. P.182–191.
6. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2010. URL: <http://www.ginasthma.org>
7. Increasing doses of inhaled corticosteroids compared to adding long-acting inhaled β_2 -agonists in achieving asthma control / P.M.O'Byrne [et al.] // Chest. 2008. Vol.134, №6. P.1192–1199.
8. Increased transcription of cytokine genes in human lung epithelial cells through activation of a TRPM8 variant by cold temperatures / A.S.Sabnis [et al.] // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2008. Vol.295, №1. P.194–200.
9. β_2 -agonist induced cAMP is decreased in asthmatic airway smooth muscle due to increased PDE4D / T.Trian [et al.] // PLoS One. 2011. Vol.6. №5. e20000.
10. Effects of endogenous glucocorticoids on allergic inflammation and Th1/Th2 balance in airway allergic disease / S.Zhang [et al.] // Ann. Allergy Asthma Immunol. 2009. Vol.103, №6. P.525–534.

REFERENCES

1. Perelman J.M., Prikhodko A.G. *Bulleten' fiziologii i*

patologii dyhaniya 2002; 12:22–28.

2. Pirogov A.B., Perelman J.M., Krylova U.O., Saakyan K.S. *Sibirskiy konsilium* 2007; 62(7):128–129.

3. Prikhodko A.G., Kolosov A.V. *Pul'monologiya* 2008; 1:69–74.

4. Anderson S.D., Kippelen P. Airway injury as a mechanism for exercise-induced bronchoconstriction in elite athletes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 122(2):225–235.

5. Barnes P.J. Scientific rationale for inhaled combination therapy with long-acting β_2 -agonists and corticosteroids. *Eur. Respir. J.* 2002; 19(1):182–191.

6. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2010. Available at: <http://www.ginasthma.org>

7. O'Byrne P.M., Naya I.P., Kallen A., Postma D.S., Barnes P.J. Increasing doses of inhaled corticosteroids

compared to adding long-acting inhaled β_2 -agonists in achieving asthma control. *Chest* 2008; 134(6):1192–1199.

8. Sabnis A.S., Reilly C.A., Veranth J.M., Yost G.S. Increased transcription of cytokine genes in human lung epithelial cells through activation of a TRPM8 variant by cold temperatures. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2008; 295(1):L194–200.

9. Trian T., Burgess J.K., Niimi K., Moir L.M., Ge Q., Berger P., Liggett S.B., Black J.L., Oliver B.G. β_2 -agonist induced cAMP is decreased in asthmatic airway smooth muscle due to increased PDE4D. *PLoS One* 2011; 6(5):e20000.

10. Zhang S., Shen Z., Hu G., Liu R., Zhang X. Effects of endogenous glucocorticoids on allergic inflammation and Th1/Th2 balance in airway allergic disease. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2009; 103(6):525–534.

Поступила 05.11.2012

Контактная информация

Алексей Борисович Пирогов,

кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории профилактики НЗЛ,
Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН,

675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.

E-mail: dncfpd@ramn.ru

Correspondence should be addressed to

Aleksey B. Pirogov,

MD, PhD, Associated professor, Senior staff scientist of Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases,

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration SB RAMS,

22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: dncfpd@ramn.ru