

Е.В.Ушакова

ОРГАНИЗАЦИЯ СРОЧНЫХ РЕАКЦИЙ ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ХОЛОДОВОГО СТИМУЛА*Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН, Благовещенск***РЕЗЮМЕ**

С целью изучения характера выраженности немедленной реакции гипоталамико-надпочечниковой системы под влиянием холодного стимула обследовано 155 больных бронхиальной астмой (БА), в том числе 88 пациентов с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (ХГДП) и 67 больных с её отсутствием. При анализе полученных данных выявлено, что у больных БА с ХГДП имеется тенденция к снижению содержания глюкокортикостероидов в крови. Дисбаланс в координации межгормональных связей у больных БА является одним из факторов, моделирующих холодовую гиперреактивность бронхов.

Ключевые слова: бронхиальная астма, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, кортизол.

SUMMARY

E.V.Ushakova

ORGANISATION OF URGENT REACTIONS OF PITUITARY-ADRENAL SYSTEM IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA UNDER COLD STIMULUS INFLUENCE

To study the character of intensity of an urgent reaction of pituitary-adrenal system under the influence of cold stimulus 155 patients with bronchial asthma (BA) were examined including 88 patients with cold bronchial hyperresponsiveness (CAHR) and 67 patients without it. The obtained data showed that BA patients with cBHR had a tendency to a decreased of glucocorticosteroids level in the blood. The imbalance in coordination of interhormonal connections in BA patients is one of the factors that models cold hyperresponsiveness of bronchi.

Key words: bronchial asthma, cold airway hyperresponsiveness, cortisol.

Гипоталамико-надпочечниковая система является одной из модулирующих систем бронхиальной проводимости среди больных с хронической обструкцией дыхательных путей [1]. Глюкокортикоидная система может рассматриваться как одна из важнейших систем регуляции, оказывающих нормализующее, стабилизирующее действие на все уровни функционирования бронхов и лёгких [4].

Как известно, недостаточность глюкокортикоидных гормонов усугубляет контроль над течением бронхиальной астмы (БА) [5]. В настоящее время подчёркивается существенная роль нарушений глюкокортикоидного гомеостаза в формировании гиперреактивности бронхов [3]. Вместе с тем остается

неясным, в какой степени справедливо данное утверждение в отношении значимости нарушения гормонального гомеостаза в формировании бронхоспазма у больных БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (ХГДП).

Целью исследования явилось определение роли нарушений функциональной активности гипоталамико-надпочечниковой системы и чувствительности клеток-мишеней к глюкокортикоидам у больных БА в патогенезе изменённой холодовой реактивности бронхов.

Материалы и методы исследования

Обследовано 155 больных БА, в том числе 141 (91%) пациент с лёгким персистирующим течением и 14 (9%) больных с астмой средней степени тяжести. При проведении пробы с изокапнической (5% CO₂) вентиляцией холодным (-20°C) воздухом (ИГХВ) изменённая реактивность бронхов была выявлена у 88 (52%) больных (I группа пациентов). В данной группе средний возраст больных составил 34,0±11,4 лет, средний вес 73,9±9,08 кг, средний рост 166,4±7,11 см. В группе II находились 67 (39%) пациентов с отсутствием ХГДП, средний возраст которых составил 35,0±11,3 лет, средний вес 71,6±9,34 кг, средний рост 168,2±7,07 см. Всем больным проводились исследования уровня адренокортикотропного гормона (АКТГ), уровня кортизола в сыворотке крови, величины поглощения кортизола лимфоцитами (ПКЛ) исходно и через 5 минут после проведения ИГХВ.

Гормональные показатели определяли в сыворотке и плазме крови, взятой из локтевой вены в количестве 5 мл. Образцы замораживали и хранили при -20°C не более 2-3 недель. Для определения уровня АКТГ твердо-фазным иммуноферментным анализом использовали набор реактивов ATCH ELISA (Biomerica, Германия). Методика основана на использовании в тесте козьих поликлональных антител к АКТГ человека, очищенных с помощью аффинной хроматографии, а также мышинных моноклональных антител к АКТГ человека, специфичных к строго определённым областям молекулы АКТГ. Одному биотинилированному антителу придано свойство связываться только с С-концевыми 34-39 аминокислотами молекулы АКТГ. Другому антителу придано свойство связываться только с центральной областью и N-концевыми 1-24 аминокислотами молекулы АКТГ, данное антитело мечено пероксидазой из корня хрена для проявления. В данном анализе калибраторы, контроли и образцы плазмы крови пациентов одновременно инкубируют с конъюгированными с ферментом антителами и мечеными биотином антителами в лунках микропланшета,

покрытых стрептавидином. После инкубации лунки планшета промывают для удаления несвязавшихся компонентов. Фермент, связавшийся с твёрдой фазой, инкубируют с субстратом (тетраметилбензидином). Реакцию останавливают добавлением в лунки кислотного стоп-реагента, при этом цвет раствора становится жёлтым. Интенсивность жёлтого окрашивания прямо пропорциональна концентрации АКТГ в образце. По калибраторам строится кривая зависимости оптической плотности от концентрации АКТГ. По этой калибровочной кривой определяют концентрацию АКТГ в контролях и исследуемых образцах. Границы для нормального значения АКТГ составили 8,82-34,42 пг/мл.

Для определения уровня кортизола в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа использовали наборы реактивов фирмы «АЛКОР БИО» (Россия). Методика заключается в следующем: в лунках, при добавлении исследуемого образца и конъюгата (кортизол-пероксидазы), во время инкубации устанавливается равновесие между конъюгатом и эндогенным кортизолом сыворотки крови за связывание с антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. При удалении содержимого из лунок происходит разделение свободного и связанного антителами кортизола и конъюгата кортизол-пероксидазы, причём количество связанного антителами конъюгата обратно пропорционально количеству кортизола в образце сыворотки крови. Во время инкубации с тетраметилбензидином происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству связанного антителами конъюгата кортизол-пероксидазы. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация кортизола в определяемых образцах. Границы для нормального значения кортизола составили 150-750 нмоль/л.

Величину ПКЛ определяли по методу В.И.Пыцкого (1980) в модификации В.И.Трофимова и соавт. (1989). Из 10 мл цельной крови при седиментации в течение 1,5 ч при температуре 37°C получали лейкоцитарную взвесь. Лимфоциты из лейкоцитарной взвеси выделяли центрифугированием в градиенте плотности фиколлаверографина. Инкубацию лимфоцитов проводили в 1 мл физиологического раствора натрия хлорида, куда вносили 0,20 мкг гидрокортизона. Инкубировали в течение 60 минут при температуре 37°C. Содержание гормона в растворе после инкубации сравнивали со стандартом и определяли флюориметрическим способом.

Статистический анализ полученных данных выполняли с помощью стандартных методов вариационной статистики [2].

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе проведённых исследований было установлено, что у больных БА в условиях неконтролируемого течения заболевания исходный уровень кортизола в крови имеет неоднозначные величины по сравнению с

контрольной группой. У пациентов в обеих группах наблюдается увеличение концентрации кортизола по сравнению со здоровыми лицами, что является результатом стрессовой ситуации при данном заболевании. У здоровых добровольцев уровень кортизола в крови составил $495,1 \pm 36,15$ нмоль/л, тогда как у пациентов I группы значения колебались в пределах $604,5 \pm 48,11$ нмоль/л ($p < 0,05$ в сравнении со здоровыми лицами), а у больных II группы показатели составили $794,9 \pm 54,0$ нмоль/л ($p < 0,001$ в сравнении со здоровыми лицами).

При анализе концентрации кортизола у больных БА в зависимости от степени тяжести заболевания было установлено, что наибольшая величина содержания кортизола приходится на интермиттирующую астму ($896,5 \pm 51,1$ нмоль/л). С утяжелением течения заболевания уровень глюкокортикоида, как правило, снижается. Так, при персистирующей БА данный показатель составлял $698,9 \pm 48,7$ нмоль/л, при средней степени тяжести астмы – $465,1 \pm 36,2$ нмоль/л. При сопоставлении содержания кортизола у больных БА было отмечено, что у пациентов I группы данный показатель оказался достоверно ниже, чем у больных II группы (таб.). Следует отметить, что при I степени ХГДП средние величины глюкокортикоида составили $579 \pm 29,2$ нмоль/л, при II степени – $502,5 \pm 23,9$ нмоль/л и при III степени – $410,7 \pm 20,4$ нмоль/л.

Что касается изменений картины характера и выраженности «поведения» кортизола на фоне холодого бронхоспазма в зависимости от степени тяжести заболевания, то нами были обнаружены достоверные различия в сторону снижения глюкокортикоида в крови до $304,6 \pm 42,5$ нмоль/л лишь у больных средне-тяжёлой БА. У пациентов с интермиттирующей и лёгкой персистирующей астмой таких изменений не наблюдалось. Величины, соответственно, составили $697,3 \pm 49,2$ нмоль/л и $608,4 \pm 45,3$ нмоль/л.

При анализе взаимосвязи параметров содержания кортизола и выраженности ХГДП у больных БА была выявлена тесная взаимосвязь между концентрацией гормона в крови и степенью ХГДП. Установлена обратная корреляционная зависимость между степенью ХГДП и содержанием кортизола в крови ($r = -0,46$; $p < 0,01$).

При исследовании показателей гипоталамической функции отмечено, что у больных с наличием ХГДП концентрация АКТГ была достоверно ниже, чем у пациентов без ХГДП ($p < 0,001$). После ИГХВ у больных в I группе данный показатель снизился, а у пациентов во II группе произошло его увеличение, хотя достоверных различий мы не обнаружили. Обращает на себя внимание, что у больных в обеих группах при индивидуальном анализе преобладает количество случаев с нормальным содержанием данного гормона. Вместе с тем, в I группе превалировало количество больных с низким содержанием АКТГ, а число пациентов с высоким уровнем АКТГ было значительно снижено.

Нами выделено 2 типа взаимоотношений коры надпочечников и аденогипофиза:

1 тип – адекватный (стрессовый) тип реагирования, при котором концентрация кортизола повышена, со-

держание АКТГ нормальное или повышено.

2 тип – недостаточная ответная реакция, при которой концентрация кортизола снижена, содержание АКТГ остаётся нормальным или повышенным.

Таблица

Сравнительная характеристика показателей гипофизарно-надпочечниковой системы и поглощение кортизола лимфоцитами у больных БА до и после пробы ИГХВ

Показатели	I группа	II группа	p
Кортизол, нмоль/л	604.5 ± 48.11 $443.7 \pm 42.14^{**}$	794.9 ± 54.0 $685.6 \pm 58.91^{**}$	$p < 0.001$ $p < 0.001$
АКТГ, пг/мл	16.42 ± 2.37 14.7 ± 2.65	24.8 ± 3.44 31.5 ± 3.85	$p < 0.001$ $p < 0.001$
Поглощение гидрокортизона ($\times 10^{-4}$ мкг/1000 клеток)	(0.097 ± 0.025) $(0.062 \pm 0.021)^*$	(0.189 ± 0.029) $(0.167 \pm 0.026)^*$	$p < 0.01$ $p < 0.001$

Примечание: в числителе – исходные показатели, в знаменателе – показатели после пробы ИГХВ; p – достоверность различий между показателями I и II группы; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – достоверность различий между показателями до и после пробы ИГХВ (парным методом).

При распределении больных БА в зависимости от типа взаимоотношений активности коры надпочечников и аденогипофиза отмечается, что у пациентов с отсутствием ХГДП изначально преобладал стрессовый тип реагирования (в 94% случаев), тогда как среди больных с ХГДП лишь 44,9% относились к данному типу взаимоотношений ($\chi^2=7,4$; $p < 0,01$). У последних в большей мере отмечалось и снижение реактивности гипофизарно-надпочечниковой системы в сравнении с пациентами без ХГДП – в 55,1 и 6%, соответственно ($\chi^2=7,5$; $p < 0,01$).

После пробы ИГХВ у 64,5% пациентов без ХГДП также отмечалось преобладание стрессового типа реагирования, тогда как у больных с ХГДП данный тип установлен лишь в 10,2% случаев ($\chi^2=8,6$; $p < 0,01$). Одновременно с этим, у пациентов I группы превалирует недостаточная в сравнении с больными II группы ответная реакция со стороны надпочечников и аденогипофиза, соответственно, в 89,8 и 35,5% случаев ($\chi^2=5,2$; $p < 0,05$).

Чувствительность клеток к гидрокортизону исследовалась по поглощению кортизола лимфоцитами (табл.). Этот комплекс исследований позволяет судить, на каком уровне глюкокортикоидной регуляции происходит нарушение гормонального гомеостаза. Так, при сопоставлении данных ПКЛ было зарегистрировано, что у пациентов без ХГДП значение анализируемого показателя статистически значимо превышает таковой по сравнению с пациентами с наличием ХГДП ($p < 0,01$). Данный факт может свидетельствовать о том, что в ответ на проведение холодовой провокации происходит снижение поглощения кортизола клеточными структурами.

Таким образом, анализ полученных данных позволяет предположить, что на фоне холодового стимула

происходит нарушение гормонального гомеостаза, что имеет определённое значение в патогенезе изменённой чувствительности и реактивности бронхов к холодовому стимулу. В условиях хронического стресса на фоне длительно протекающей БА происходит нарушение глюкокортикоидной функции коры надпочечников [6]. По всей видимости, значительная часть кортизола связана с белком и не может быть использована тканями. Хотя в крови определяется повышенная концентрация данного гормона, мало его активных форм. В результате этого, текущий уровень гормональной активности не способен компенсировать снижение функциональной активности β_2 -адренорецепторного комплекса [7]. Мы считаем, что дисбаланс в координации межгормональных связей у больных БА является одним из факторов, моделирующих ХГДП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Нейроэндокринная регуляция иммунитета / Учкин П.Н. // Вестн. Рос. АМН. 2007. №9. С.26–31.
2. Ульянычев Н.В. Автоматизированная система для научных исследований в области физиологии и патологии дыхания // Новосибирск: ВО Наука; 1993. 246 с.
3. Barnes P.J. Scientific rationale for using a single inhaler for asthma control // Eur. Respir. J. 2007. Vol.29, №3. P.587–595.
4. Hochhaus G. New developments in corticosteroids // Proc. Am. Thorac. Soc. 2004. Vol.1. P.269–274.
5. Plasma cortisol levels in acute asthma / Kapoor U. [et al.] // Indian J. Pediatr. 2003. Vol.70, №12. P.965–968.
6. Depression and pulmonary function in outpatients with asthma / Krommydas G. [et al.] // Respir. Med. 2004. Vol.98, №3. P. 220–224.
7. Dysregulation of the stress response in asthmatic children / Piftis K.N. [et al.] // Allergy. 2009. Vol.64, №1. P.18–31.

Поступила 15.11.2010

Елена Владимировна Ушакова, аспирант,
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22;

Elena V. Ushakova,
22 Kalinin Str., Blagoveshensk, 675000;
E-mail: cfpd@amur.ru