

А.П.Колычев, В.Н.Минеев, Н.Ю.Булатова, Г.Б.Федосеев

ОСОБЕННОСТИ ИНСУЛИН-РЕЦЕПТОРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Лаборатория эволюции биохимических систем коммуникации ИЭФ РАН им. Сеченова, кафедра
госпитальной терапии СПМИ им. акад. И.П.Павлова

THE FEATURES OF INSULIN-RECEPTOR INTERACTIONS DURING BRONCHIAL ASTHMA

A.P.Kolichev, V.N.Mineev, N.J.Bulatova, G.B.Fedoseev

Summary

The characteristics of erythrocyte insulin receptors (the number and affinity) by means of evaluation of the 125-I-insulin specific binding and level of immunoreactive insulin were studied during bronchial asthma (BA). Besides of the erythrocyte membrane, the glucose transport as a final effector mechanism was evaluated.

It was revealed that the level of the 125-I-insulin specific binding was higher during atopic BA (ABA) and was lower during infectional BA (IBA) than those in healthy subjects. During BA, the number of insulin receptors was decreased but their affinity was increased, especially during ABA.

ABA is characterized by the inverse paradoxal effector exflux of glucose from the erythrocyte instead of the influx of one revealed in healthy subjects. No any effects were shown in IBA patients.

Резюме

Изучались характеристики инсулиновых рецепторов эритроцитов (число и способность к связыванию) при помощи определения 125-*I*-инсулин специфического связывания и уровня иммунореактивного инсулина при бронхиальной астме (БА). Помимо мембран эритроцитов оценивался транспорт глюкозы как последний эффекторный механизм.

Было выявлено, что уровень 125-*I*-инсулин специфического связывания был выше при атопической БА (АБА) и ниже при инфекционной БА (ИБА), чем у здоровых. При БА число инсулиновых рецепторов снижалось, тогда как их способность к связыванию увеличивалась, особенно при АБА.

АБА характеризуется обратным парадоксальным эффекторным током глюкозы вовне из эритроцитов взамен внутреннего тока, выявленного у здоровых. У пациентов с ИБА никаких эффектов не было найдено.

В рамках концептуальной схемы патогенеза бронхиальной астмы (БА) клеточной рецепции как первичному звену в системе передачи сигнала отводится центральная роль [10]. Ранее нами была постулирована концепция [9] об атопической БА (АБА) как наследственной патологии, сопровождающейся первичными, распространенными изменениями клеточной мембраны. Указанная концепция была сформулирована, прежде всего исходя из данных, полученных при исследовании β -адренорецепторов.

Идея о распространенности мембрано-рецепторных изменений при АБА обусловила наш интерес к исследованиям такой важной регуляторной системы, опосредующей во многом противоположные по отношению к адренореактивной системе эффекты, как инсулиновый рецептор.

Кроме того, к настоящему времени сложилось представление о том, что АБА и сахарный диабет — это заболевания, крайне редко встречающиеся у одного больного [3,13]. Об этом свидетельствует также и опыт клиники госпитальной терапии Санкт-Петербургского медицинского института им. акад.

И.П.Павлова, занимающейся в течение десятков лет проблемами БА. Меньшая частота совместного появления АБА и сахарного диабета ниже ожидаемой, исходя из распространенности их в общей популяции, расценивается как некий взаимный антагонизм, препятствующий их одновременному появлению. Клинические наблюдения свидетельствуют, что в случае же одновременного появления обоих заболеваний у одного пациента каждое из них легче поддается лечению, а течение их более благоприятно [13,16]. Молекулярные механизмы такого антагонизма изучены недостаточно [15]. Если при сахарном диабете исследования рецепторов инсулина проводились достаточно широко и установлено снижение сродства и количества инсулиновых рецепторов [1,14], то при БА подобных исследований нам не встретилось. В работе использованы эритроциты как модель, которая вполне отражает состояние рецепторов инсулина также и в тканях-мишенях [5,12].

Обследованы больные БА с такими первичными клиничко-патогенетическими вариантами заболевания, как атопический (АБА) и инфекционно-зависимый

Характеристика двух классов инсулиновых рецепторов в эритроцитах практически здоровых лиц и больных бронхиальной астмой

Группы	Рецепторы с высоким средством		Рецепторы с низким средством	
	Константа средства, 10^9 M^{-1}	Максимальная емкость, моль 10^{-13}	Константа средства, 10^8 M^{-1}	Максимальная емкость, моль 10^{-12}
Здоровые	0,39	0,33	0,18	0,93
АБА	0,94	0,28	0,23	0,48
ИЗБА	1,43	0,12	0,25	0,22

генетическими вариантами БА, в то время как зависимости уровня специфического связывания от тяжести течения и фазы заболевания не выявлено [2].

Корреляционный анализ показал наличие достоверной связи между уровнем специфического связывания и содержанием ретикулоцитов во всех обследованных группах: в контрольной группе $r=+0,798$ ($n=14$), при ИЗБА $r=+0,950$ ($n=11$), при АБА $r=+0,930$ ($n=9$), что совпадает с представлением о ретикулоцитах как наиболее молодых клетках периферической популяции клеток красной крови, содержащих наибольшее число рецепторов инсулина. Анализ выявил также зависимость высокого уровня связывания при АБА от повышенного содержания ретикулоцитов, среднее значение которого составило 3,2%, в то время как при ИЗБА — 2,5%.

Кроме этого, при АБА больные с высоким уровнем ретикулоцитов (более 2,5%) встречались в два раза чаще (66,7%), чем при ИЗБА и у практически здоровых лиц (27% и 27% случаев соответственно).

Построение кривых конкурентного вытеснения и расчет данных в координатах Скэтчарда показали сложную картину изменений рецепторов при обоих клинико-патогенетических вариантах БА.

Изменения рецепторов при этих вариантах заболевания принципиально сходны, хотя количественно отличаются довольно существенно. В обоих случаях отмечаются разнонаправленные изменения основных характеристик: снижение числа рецепторов и повышение их средства.

Наиболее неожиданным оказалось то, что при АБА, несмотря на повышенный уровень связывания, число рецепторов по сравнению со здоровыми снижено. Наиболее характерным для АБА является повышение средства рецепторов, которое не только компенсирует снижение доли рецепторов, но и значительно перекрывает эту потерю, определяя в конечном счете подъем уровня специфического связывания.

Сходные, но более выраженные разнонаправленные изменения происходят и с рецепторами инсулина при ИЗБА — резкое, более чем в три раза, повышение их средства и одновременно более значительное снижение (на 75%) числа рецепторов. Однако конечное соотношение этих показателей (уровень специфического связывания) в отличие от АБА иное — повышение средства рецепторов при

(ИЗБА). Диагноз БА и соответствующих клинико-патогенетических вариантов устанавливали согласно классификации А.Д.Адо и П.К.Булатова (1969) и диагностических критериев вариантов БА, разработанных Г.Б.Федосеевым [10].

Эритроциты отделяли от других форменных элементов с помощью трехкратного центрифугирования и отмывания физиологическим раствором. Концентрацию эритроцитов во взвеси подсчитывали в камере Горяева, а количество ретикулоцитов — с помощью микроскопии мазков, окрашенных насыщенным раствором бриллианткрезилблау в абсолютном спирте.

Рецепторы инсулина изучали методом специфического связывания ^{125}I -инсулина (фирма "Lilly", меченый в лаборатории NaI^{125} , спец. активность 6,8—7,5 МКБ/мкг). Уровень специфического связывания с эритроцитами рассчитывали на $4 \cdot 10^6$ клеток/мл инкубационной смеси. Данные по конкурентному вытеснению преобразовывали по методу Скэтчарда [7].

Инсулин в плазме определяли твердофазным радиоиммунологическим методом в модификации [6] с использованием видоспецифической радиоиммунной системы.

Для исследования транспорта глюкозы применяли разработанный Н.Ю.Булатовой подход с оценкой динамики содержания глюкозы в надосадочной жидкости до и после воздействия инсулином [2]. Инсулин добавляли в концентрации 0,1 нг/мл. Содержание глюкозы (ммоль/л) определяли с помощью анализатора глюкозы "Exsan-L" (Латвия), динамику содержания выражали в процентах к исходному уровню.

Результаты исследования уровня специфического связывания ^{125}I -инсулина и уровня иммунореактивного инсулина (ИРИ) представлены в табл.1, характеристика инсулиновых рецепторов — в табл.2.

Из табл.1 видно, что при БА уровень специфического связывания ^{125}I -инсулина в эритроцитах существенно изменен, причем направленность изменений зависит от клинико-патогенетического варианта заболевания.

Так, если при АБА уровень специфического связывания выше, чем в группе здоровых, то в группе ИЗБА он незначительно снижен, но наибольшее различие в уровне связывания отмечалось между клинико-пато-

Таблица 1

Уровень специфического связывания ^{125}I -инсулина эритроцитами и уровень ИРИ практически здоровых лиц и больных БА ($M \pm m$)

Группы	Уровень специфического связывания, %	Уровень ИРИ, нг/мл
1. Здоровые	$2,9 \pm 0,7$ $n=14$	$0,39 \pm 0,08$ $n=20$
2. АБА	$4,0 \pm 0,6$ $n=9$ $p_{1-2} > 0,05$	$0,37 \pm 0,03$ $n=30$ $p_{1-2} > 0,05$
3. ИЗБА	$2,4 \pm 0,6$ $n=11$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$	$0,39 \pm 0,02$ $n=39$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$

ИЗБА не компенсирует полностью уменьшения части рецепторов.

Таким образом, из расчета по Скэтчарду следует, что уровень связывания рецепторов с инсулином при АБА определяется главным образом повышением сродства рецепторов, тогда как при ИЗБА решающее влияние на уровень связывания оказывает количественная потеря рецепторов. Различие же между рассматриваемыми вариантами заболевания связано в основном с большим (в 2 раза) числом рецепторов на эритроцитах при АБА, что в свою очередь коррелирует при этом варианте с высоким содержанием ретикулоцитов в их популяции.

Подобие происходящих при разных вариантах заболевания изменений рецепторов требует допущения, что они являются результатом действия сходных факторов. При этом в первую очередь приходится рассматривать, не является ли уменьшение части рецепторов на клетках результатом "даун-регуляции". Однако в данном случае причиной снижения числа рецепторов, а тем более причиной изменения связывающих характеристик нельзя считать сдвиги в концентрации инсулина крови, так как базальный уровень ИРИ в обеих группах больных и у здоровых лиц не отличался. Подобные данные приведены и в работе [15], в которой отличий в базальном уровне ИРИ при АБА также не выявлено.

С другой стороны, действие индивидуальных колебаний уровня инсулина на уровень специфического связывания при разных клинико-патогенетических вариантах БА отличается. Приведем типичные клинические примеры, иллюстрирующие особенности действия повышенной концентрации инсулина на уровень специфического связывания.

Больной Л., 50 лет. Клинический диагноз: бронхиальная астма, инфекционно-зависимый вариант, средней тяжести течения, фаза затихающего обострения. Болен в течение 5 лет. Наследственность в отношении аллергических заболеваний не отягощена. Курит в течение 30 лет, работает в горячем цеху, имеет дело с литьем цветных металлов. Отмечает непереносимость холодного воздуха и резких запахов — возникает приступ удушья. Терапевтический эффект наступил при применении ампиокса. При специальном исследовании выявлено: уровень специфического связывания — 2,2%, уровень ИРИ — 1,4 нг/мл.

Больная М., 36 лет. Клинический диагноз: бронхиальная астма, атопический вариант, легкое течение, фаза затихающего обострения. Больна в течение 8 лет. Наследственность отягощена: у матери экзема, у родной сестры — вазомоторный ринит. При аллергологическом обследовании обнаружена повышенная чувствительность к аллергенам домашней пыли и пыльцы. При применении интала отмечается выраженный терапевтический эффект. При специальном исследовании выявлено: уровень специфического связывания — 4,0%, уровень ИРИ — 0,8 нг/мл.

Из данных примеров следует, что в случае ИЗБА повышенная концентрация инсулина в крови приводит к даун-регуляции со снижением уровня связывания, тогда как при АБА уровень связывания остается все равно выше, чем в эритроцитах здоровых лиц, скорее всего за счет повышенной аффинности рецепторов. Таким образом, повышение сродства рецепторов при АБА обеспечивает высокий уровень связывания, уменьшая проявления даун-регуляции.

Чтобы выявить возможность влияния измененных инсулин-рецепторных взаимодействий на конечный

Таблица 3

Транспорт глюкозы в эритроцитах при воздействии инсулина у практически здоровых лиц и у больных БА ($M \pm m, \%$)

	Группы	Эффект инсулина
	1. Здоровые $n=32$	$-16,9 \pm 3,4$
А Б А	2. Обострение $n=32$	$+45,0 \pm 7,7$ $p_{1-2} < 0,001$
	3. Ремиссия $n=18$	$+37,5 \pm 10,4$ $p_{1-3} < 0,001; p_{2-3} > 0,05$
	4. Гормонозависимые $n=4$	$-7,5 \pm 2,8$ $p_{1-4} > 0,05; p_{2-4} < 0,05$
И З Б А	5. Обострение $n=35$	$+2,0 \pm 0,5$ $p_{1-5} < 0,001; p_{2-5} < 0,001$
	6. Ремиссия $n=29$	$-10,4 \pm 1,6$ $p_{1-6} > 0,05; p_{3-6} < 0,001$
	7. Гормонозависимые $n=11$	$-9,9 \pm 3,1$ $p_{1-7} > 0,05; p_{5-7} < 0,001$

Примечание. Знаком (-) обозначается вход глюкозы в клетку, знаком (+) — выход глюкозы из клетки

эффекторный механизм, было решено исследовать мембранный транспорт глюкозы как эффекторный механизм при воздействии инсулина.

Из табл.3 видно, что у практически здоровых лиц инсулин проявляет свой физиологический эффект, усиливая транспорт глюкозы в эритроцитах.

При БА эффект инсулина изменен и зависит от клинико-патогенетического варианта заболевания. Так, если при ИЗБА эффект инсулина практически отсутствует, то у больных АБА отмечается парадоксальный эффект — выход глюкозы из клетки, причем этот эффект сохраняется и в фазе ремиссии заболевания, и даже (хотя и менее выраженный) у больных, получающих глюкокортикоидные препараты.

При ИЗБА в фазе ремиссии наблюдается некоторая нормализация влияния инсулина, такая же тенденция видна и в группе больных, получающих глюкокортикоиды.

Приведем клинический пример, иллюстрирующий особенности влияния инсулина на транспорт глюкозы при АБА.

Больная Г., 51 года. Клинический диагноз: бронхиальная астма, (пыльцевая, эпидермальная, бытовая), дисгормональная, средней тяжести течения, фаза обострения. У родного брата, тети — бронхиальная астма, у дочери — экссудативный диатез. В период беременности и после родов стало проявляться затрудненное дыхание, а затем и приступы удушья. В дальнейшем приступы удушья возникали весной в период цветения, а также дома при уборке квартиры. Был эффективен интал, приступы купировались эуфилином, беротеком. При аллергологическом тестировании были выявлены признаки пыльцевой, эпидермальной, бытовой гиперчувствительности. Приступы удушья возникали при употреблении в пищу клубники. При применении пенициллина - крапивница. За период болезни получила курс иглорефлексотерапии, разгрузочно-диетической терапии, 2 курса специфической гипосенсибилизации с домашней пылью. Однако за последние десять лет ежегодно переносила ОРВИ, что приводило к обострениям заболевания и

применению глюкокортикоидов (бекломета, гидрокортизона, преднизолона по 25 мг внутрь). При исследовании транспорта глюкозы была выявлена парадоксальная реакция на инсулин (+7%), несмотря на применение глюкокортикоидов. Кроме этого выявлено значительное снижение уровня гликозилированного гемоглобина (2,34%), микроцитоз (12% микроцитов), что характерно для АБА [2,8]; содержание ИРИ составило 0,2 нг/мл.

Отсутствие эффекта инсулина на транспорт глюкозы при ИЗБА, возможно, связано со снижением числа рецепторов при этом варианте заболевания, тогда как изменения мембранного транспорта глюкозы в эритроцитах при АБА носят парадоксальный характер, причем вне зависимости от фазы заболевания.

Наиболее убедительно о качественном сходстве установленных изменений при обоих вариантах заболевания свидетельствует повышение их аффинности, которое более выражено при ИЗБА, но при АБА является определяющим. Известно, что изменение сродства рецепторов зависит по крайней мере от двух факторов: либо от изменения липидного окружения рецепторов (липидного состава мембран и жидкостности липидной фазы), либо от степени гликозилированности рецептора. Первое предположение кажется более приемлемым при АБА [4], однако полностью отрицать возможность изменений гликозидной части рецептора нельзя. Повышение аффинности рецепторов вполне может являться тем фактором, который в эритроцитах (клетках, лишенных ресинтеза рецептора), усиливая связывание гормона и интернализацию рецепторов, ведет к последующему снижению их числа на мембране клетки. Во всяком случае такое повышение аффинности, которое приводит к значительному увеличению рецепторов связывания, вполне может быть ответственным за клинический антагонизм между АБА и сахарным диабетом, особенно, если оно отмечается и в других тканях.

Таким образом, выявленные в работе особенности рецепторов инсулина при АБА, такие как повышение аффинности рецепторов, а также тенденция к повышенному содержанию ретикулоцитов, обеспечивают поддержание высокого уровня связывания рецептора с гормоном. Указанные особенности укладываются в систему представлений С.С.Жихарева [4] о дедифференцировке как о характерной патогенетической черте атопического варианта БА. Особенности рецеп-

торов инсулина при этом варианте заболевания составляют в целом картину изменений, существенно отличающую их от изменений при ИЗБА. В конечном итоге, эти отличия формируют такие изменения углеводного обмена при АБА, которые могут задерживать развитие патологических изменений при сахарном диабете, столь редко встречающемся при АБА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М.И., Недосугова Л.В., Ольшанская А.Я., Липац А.А. // Мед. радиол.— 1983.— № 8.— С.7—12.
2. Булатова Н.Ю. Изменение некоторых показателей углеводного обмена у больных бронхиальной астмой и их значение в патогенезе заболевания: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— СПб., 1993.
3. Вытрищак В.В. Эндокринные и иммунные аспекты формирования клинических вариантов бронхиальной астмы, возможности рациональной терапии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— СПб., 1993.
4. Жихарев С.С. // Физиологические и патофизиологические механизмы проходимости бронхов / Под ред. Г.Б.Федосеева, А.Г.Жиронкина.— Л., 1984.— С.180—210.
5. Колычев А.П. Инсулиновые рецепторы в онтогенезе у кур: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Л., 1988.
6. Лейбуш Б.Н. // Бюл. exper. биол.— 1971.— № 11.— С.89—91.
7. Лейбуш Б.Н., Колычев А.П., Бондарева В.М. // Онтогенез.— 1984.— Т.15, № 3.— С.290—296.
8. Минеев В.Н., Жихарев С.С., Яблонская В.Н. // Ранняя диагностика и профилактика неспецифических заболеваний легких.— Л., 1987.— С.105—108.
9. Минеев В.Н., Лукашевская Н.Н., Жарская В.Д. и др. // Всесоюзный конгресс по болезням органов дыхания, 2-й: Резюме докладов.— Челябинск, 1991.— С.54.
10. Федосеев Г.Б. // Пробл. туб.— 1983.— № 8.— С.27—32.
11. Федосеев Г.Б. // Новое в этиологии, патогенезе, клинике, лечении и профилактике преаастмы и бронхиальной астмы.— Л., 1985.— С.4—7.
12. David O., Cerutti F., Sacchetti C. et al. // Panminerva Med.— 1990.— Vol.32, № 3.— P.108—111.
13. Lasser E. // Med. Hypotheses.— 1987.— Vol.23, № 1.— P.95—106.
14. Mc Guinness O.P., Myers S.R., Neal D., Cherrington A.D. // Metabolism.— 1990.— Vol.39, № 9.— P.931—937.
15. Szczeklik A., Rieton R., Sieradzki J. // J.Allergy Clin. Immunol.— 1980.— Vol.66, № 5.— P.424—427.
16. Tinkelman D., King S. // Ibid.— 1979.— Vol.64, № 3.— P.223—226.

Поступила 25.10.93.