

деления группы гранулематозных заболеваний не исключают другой трактовки описываемых заболеваний и синдромов. В частности, можно взять за основу одну из наиболее неблагоприятных форм течения этих болезней — диффузное поражение легких. Но, независимо от различий во взглядах на сущность причинно-следственных отношений среди этих болезней, несомненно главное: эти заболевания встречаются

значительно чаще, чем представлялось ранее, для этого есть объективные предпосылки в виде нарастающей экологической агрессии и, наконец, многие вопросы диагностики и лечения этих болезней далеки от разрешения. Все это оправдывает привлечение внимания врачей и научных сотрудников к проблеме легочных гранулематозов.

Поступила 21.01.92

Оригинальные исследования

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 616.248-06:616.45-092.19

А. Г. Чучалин, Т. А. Чеглакова, Б. И. Шмушкович

БЕТА-АДРЕНЕРГИЧЕСКАЯ, ГЛЮКОКОРТИКОИДНАЯ РЕЦЕПЦИЯ И ФУНКЦИИ НАДПОЧЕЧНИКОВ КАК МЕХАНИЗМЫ СТРЕССА И АДАПТИВНОЙ РЕАКЦИИ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

НИИ пульмонологии МЗ РФ

В патогенезе бронхиальной астмы (БА) доминирующая роль придается частичной блокаде (десенситизации) бета-адренергической рецепции (БАР) [14, 23, 24]. Степень ее выраженности имеет тенденцию к корреляции с тяжестью БА [7]. Функциональное состояние БАР определяет процесс фосфорилирования клеточных белков [9], а следовательно, и активацию глюкокортикоидных рецепторов (ГКР) [11] — мишени действия глюкокортикоидов (ГК). Приступ удушья, приводящий к нарушению целостности внутренней среды организма больных БА (стресс), обусловлен десенситизацией БАР. С другой стороны, адаптивная реакция на стресс, в частности активация симпатико-адреналовой системы, должна осуществляться в условиях дефекта мишени, на которую действует эта система, то есть в условиях той же десенситизации БАР.

С учетом изложенного представляется значимым в целях изучения механизмов стресса и адаптивной реакции при БА проведение одновременного исследования БАР, ГКР и кортизола как в фазе обострения, так и в фазе клинической ремиссии заболевания, а также оценка корреляционных связей между исследуемыми показателями.

Исследование проведено в группе больных БА, не получавших к моменту исследования вообще или эпизодически получавших стероидную терапию в периоды обострений короткими

курсами системных (таблетированных) ГК или в виде внутривенных (в/в) вливаний. Исследуемая группа состояла из 43 больных (15 мужчин и 28 женщин) в возрасте 18—57 лет (средний — 37,9 года). Длительность БА составляла от 1 года до 26 лет (средняя — 7,1 года). Атопическая форма БА была у 19 больных, инфекционно-зависимая — у 8 и смешанная — у 16. В легкой форме БА протекала у 4 больных, в форме средней тяжести — у 29, в тяжелой — у 10. Контрольную группу составили 20 здоровых лиц (9 мужчин и 11 женщин) в возрасте 22—51 года (средний — 29,3 года). У 18 больных исследование проведено в обеих фазах БА, у 13 — только в обострении, у 12 — только в ремиссии. У больных, получавших в обострении заболевания стероидную терапию, исследование в фазе ремиссии проводилось не менее чем через 3 и 7 дней после отмены в/в и системных ГК (короткий курс), соответственно.

При расчете корреляций проводилось объединение результатов исследований, полученных в фазе обострения и клинической ремиссии БА.

Исследование бета-адренергической и глюкокортикоидной рецепции проводилось на модельной системе лимфоцитов периферической крови. Оценка функции надпочечников проводилась по уровню кортизола плазмы крови. Забор венозной крови в количестве 50 мл в пробирки с антикоагулянтом проводился утром (8.30—9.30),

натошак, до приема лекарственных препаратов. Выделение лимфоцитов осуществлялось в одноступенчатом градиенте плотности фикол-лгипак [6].

Непосредственное исследование БАР и ГКР легких у больных практически невозможно. Правомочность использования модельной системы лимфоцитов крови в оценке бета-адренергической рецепции бронхиального дерева обосновывается литературными данными [10], а также результатами наших собственных исследований, которые свидетельствуют о наличии статистически значимой прямой корреляционной связи между значениями стимулированного цАМФ и ОФВ₁ у исследованных больных БА ($r=+0,56$; $p<0,001$).

Бета-адренергическая рецепция оценивалась по уровню стимулированного цАМФ, полученному после инкубации лимфоцитов с бета-агонистом (адреналин 10^{-6} М) в течение 10 минут, и остановки реакции нагреванием до 100°C в течение 3 минут. После инкубации лимфоциты разрушались ультразвуковым дезинтегратором «Soni-prep 150». Определение цАМФ проводилось радиоиммунным методом с использованием стандартных наборов фирмы «Амершам». Измерение радиоактивности образцов осуществлялось в жидкостном бета-сцинтилляционном счетчике Rack-beta 1217.

В основу исследования количества ГКР (количества связывающих мест) и константы диссоциации (КД) был взят метод Lippman, Bagg [13] с некоторыми модификациями Schlechte et al. [20] и А. С. Шартавы и др. [2]. В качестве меченого лиганда использовался ^3H -дексаметазон («Амершам»), немеченого — дексаметазон («Сигма»). Радиометрия образцов проводилась с помощью того же бета-счетчика. Количество ГКР и КД в большинстве случаев определялось с помощью анализа Scatchard [19], используя данные, полученные методом конкурентного связывания, с разложением кривой по методу Rosenthal [16]. В некоторых случаях

количество ГКР устанавливалось по одной точке (специфическое связывание определялось в точке полного насыщения клеток ^3H -дексаметазоном). При контрольном сопоставлении значения количества связывающих мест, определенных по Scatchard и вычисленных по одной точке, в одинаковых пробах совпадали.

Кортизол плазмы крови исследовался радиоиммунным методом с использованием стандартных наборов отечественного производства. Радиометрия проб проводилась с помощью счетчика Clini-gamma 1272.

Исследование цАМФ проводилось в триплетах, ГКР в дуплетах (при наличии достаточного количества клеток в триплетах). Кортизол исследовался в дуплетах.

Статистическая обработка результатов исследований и выяснение корреляционных связей между исследуемыми показателями проводились с помощью статистической программной системы Statgraf, Statistical Graphics, USA.

Полученные результаты (табл. 1) свидетельствуют о том, что в фазе обострения БА у исследованных больных на фоне статистически значимого снижения уровня стимулированного цАМФ как по сравнению с контролем, так и с фазой клинической ремиссии, отмечалось выраженное статистически достоверное увеличение концентрации кортизола и количества ГКР, как в сравнении с контролем, так и с фазой ремиссии. Фаза клинической ремиссии заболевания характеризовалась на фоне увеличения уровня стимулированного цАМФ нормализацией показателей кортизола и ГКР.

Исследование корреляционных связей (табл. 2) выявило обратные корреляционные зависимости между уровнем стимулированного цАМФ, с одной стороны, концентрацией кортизола и количеством ГКР, с другой, и прямую зависимость между кортизолом и ГКР. Результаты исследования КД не претерпевали изменений в различные фазы заболевания и не отличались от контроля (данные не приводятся).

Таблица 1

Бета-адренергическая и глюкокортикоидная рецепции и функция надпочечников у больных бронхиальной астмой в фазах обострения и клинической ремиссии ($M \pm m$)

Исследуемые параметры	Контроль (группа 1)	Больные бронхиальной астмой	
		Обострение (группа 2)	Клиническая ремиссия (группа 3)
Стимулированный цАМФ, пмоль/ 10^6 клеток	$78,7 \pm 13,9$ ($n=20$)	$39,5 \pm 3,5^{*,\dagger}$ ($n=21$)	$102,8 \pm 6,2^{**}$ ($n=11$)
Кортизол, нмоль/л	$518,7 \pm 56,3$ ($n=18$)	$809,5 \pm 67,1^{*,\dagger}$ ($n=21$)	$444,0 \pm 28,1^{**}$ ($n=22$)
ГКР, количество/клетку	4197 ± 125 ($n=6$)	$7936 \pm 386^{*,\dagger}$ ($n=23$)	$4626 \pm 167^{**}$ ($n=22$)

Примечание. Звездочка — $p<0,001$ при сравнении с группой 1; $\dagger$ — $p<0,001$ при сравнении с группой 3; две звездочки — статистически недостоверно при сравнении с группой 1 ($p>0,05$)

Таблица 2

Корреляционные зависимости между бета-адренергической, глюкокортикоидной рецепциями и функцией надпочечников у больных бронхиальной астмой

Исследуемые корреляции	Количество исследований	Коэффициент корреляции, (r)	Статистическая значимость (p)
Стимулированный цАМФ и кортизол	42	-0,53	<0,001
Стимулированный цАМФ и ГКР	24	-0,55	<0,01
Кортизол и ГКР	49	+0,73	<0,001

Анализ связи результатов исследования с фазой заболевания показывает, что у больных БА различные фазы характеризуются определенной динамикой исследуемых параметров, а именно: в период обострения (стресса) наблюдается сочетание недостаточности бета-рецепции (низкий уровень стимулированного цАМФ) с активацией функции надпочечников (увеличение концентрации кортизола) и увеличением количества ГКР; в период клинической ремиссии на фоне улучшения функционального состояния бета-рецепции (увеличения стимулированного цАМФ) отмечается нормализация значений кортизола и ГКР.

Наличие обратной статистически значимой зависимости между стимулированным цАМФ и кортизолом может быть свидетельством зависимости степени активации надпочечников от выраженности десенситизации бета-адренергической рецепции.

Увеличение количества ГКР в фазе обострения БА, нормализация этого показателя в период клинической ремиссии, выявление обратной корреляционной зависимости между стимулированным цАМФ и ГКР, а также прямой зависимости между кортизолом и ГКР позволяет рассматривать увеличение количества ГКР у больных БА в качестве одного из механизмов адаптации организма больных с этой нозологией к стрессу, содружественного другому механизму адаптации — активации надпочечников с результирующим приростом кортизола.

С учетом значимости бета-рецепции в контроле проходимости дыхательных путей и характера процессов, развивающихся при БА в дыхательных путях при блокаде (десенситизации) этого вида рецепции [1], правомочно считать, что дефектность бета-рецепции может быть причиной нарушения целостности внутренней среды организма у больных БА, то есть стрессорной ситуацией, как следствия нарушения проходимости дыхательных путей, обусловленного этой блокадой, на что организм реагирует развитием

адаптивной реакции, направленной на восстановление его нарушенной внутренней среды.

Полученные результаты позволяют рассматривать десенситизацию бета-адренергической рецепции у больных БА в качестве эндогенного биохимического индуктора стресса, вызывающего развитие адаптивной реакции, проявляющейся увеличением концентрации кортизола и количества ГКР.

Результаты наших исследований, касающиеся увеличения количества ГКР у больных БА в фазе обострения, то есть на фоне увеличения концентрации кортизола крови, находятся в определенном противоречии с представлениями о функционировании в природе механизма саморегуляции (feed — back взаимодействия), согласно которому должна была бы существовать не прямая, как в нашем исследовании, а обратная коррелятивная зависимость между глюкокортикоидом и ГКР [18], обусловленная регулируемым ГК механизмом гомологической десенситизации ГКР, характеризующимся уменьшением уровня мРНК глюкокортикоидного рецептора [12] в силу снижения скорости транскрипции гена этого рецептора [17].

Механизм наблюдаемого нами при БА «нарушения» feed — back взаимодействия может быть связан с активацией мембранного фермента фосфолипазы A_2 (ФЛА₂), сопровождающей десенситизацию бета-адренергической рецепции [24]. Как показано С. Кислингом и др. [1], обработка гормоночувствительных клеток ФЛА₂ приводит к блокированию системы специфического переноса ГК в плазматических мембранах, что может уменьшить поступление гормона в клетку, снизить чувствительность к нему и, следовательно, уменьшить эффект feed — back взаимодействия. С другой стороны, выявленное в настоящей работе увеличение продукции кортизола, сопровождающее бета-адренергическую блокаду у больных БА, может оказать влияние на увеличение продукции цАМФ-зависимой протеинкиназы через механизм «de novo» белкового синтеза фермента [9]. Это, в свою очередь, может способствовать усилению процесса фосфорилирования ГКР [21], то есть их активации и, следовательно, увеличению количества.

Обострение БА является, весьма вероятно, следствием воздействия на организм больного сенсibilизирующего агента. Десенситизирующий эффект действия аллергена на бета-адренергическую рецепцию лимфоцитов крови продемонстрирован нами *in vitro* как при atopической БА [3], так и при инфекционно-зависимой сенсibilизации (Базилевич Н. и др., неопубликованные данные). Вместе с тем показано, что митогенная стимуляция лимфоцитов крови здоровых людей *in vitro* [22], а также иммунизация лабораторных животных [8] сопровождаются значительным увеличением количества ГКР в

лимфоцитах крови людей и в клетках лимфатических узлов у крыс. Приведенные данные могут, вероятно, рассматриваться как отражение существования в природе механизма саморегуляции, ограничивающего в условиях сенсибилизации белковый синтез, а следовательно, и индуцированную антигеном пролиферацию лимфоцитов и продукцию антител за счет повышения чувствительности к ГК посредством увеличения количества ГКР [15]. Последнее является, вероятно, компенсаторным при снижении продукции другого фактора, ограничивающего пролиферацию лимфоцитов,— цАМФ [5], в силу обусловленной сенсибилизацией десенситизации бета-адренергической рецепции.

Таким образом, полученные нами результаты, а именно: 1) выявление десенситизации бета-адренергической рецепции в период обострения БА и восстановление ее активности в фазе клинической ремиссии заболевания; 2) увеличение уровня кортизола крови и количества ГКР в фазе обострения БА и нормализация этих показателей в фазе клинической ремиссии; 3) наличие обратных корреляционных связей между стимулированным цАМФ (степень выраженности десенситизации), с одной стороны, кортизолом и глюкокортикоидными рецепторами, с другой стороны, являются, на наш взгляд, достаточными для суждения о том, что десенситизация бета-адренергической рецепции при БА может рассматриваться в качестве эндогенного биохимического индуктора стресса. Характерной особенностью механизма адаптивной реакции при БА в условиях десенситизации бета-рецепции является увеличение как кортизола, так и ГКР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кислинг С., Алдер В. В., Дмитриева А. В. // Биохимия.— 1980.— № 12.— С. 2076—2082.
2. Шартава А. С., Петриченко И. Е., Селезнев Ю. М. и др. // Бюл. Всесоюз. кардиол. науч. центра.— 1986.— № 2.— С. 96—100.
3. Шмушкович Б. И., Попов К. Н., Бражникова Н. А. и др. // Тер. арх.— 1986.— № 4.— С. 43—46.
4. Beusenbergh F. D. et al. // Agents Actions.— 1989.— Vol. 26.— P. 105—107.
5. Bourne H. R. et al. // Science.— 1974.— Vol. 184.— P. 19—28.
6. Boyum A. // Scand. J. clin. Lab. Invest.— 1968.— Suppl. 21.— P. 77—89.
7. Brooks S. M. et al. // J. Allergy.— 1979.— Vol. 63.— P. 401—406.

8. Crabtree G. R., Munck A., Smith K. A. // J. Immunol.— 1980.— Vol. 124.— P. 2430—2435.
9. Greengard P. // Science.— 1978.— Vol. 199.— P. 146—152.
10. Hoffman B. B. // Clin. Endocr. Metab.— 1983.— Vol. 12.— P. 1—13.
11. Housley P. R., Pratt W. B. // J. biol. Chem.— 1983.— Vol. 258.— P. 4630—4635.
12. Kalinyak J. E. et al. // Ibid.— 1987.— Vol. 262.— P. 10441—10444.
13. Lippman M. E., Barr R. // J. Immunol.— 1977.— Vol. 118.— P. 1977—1981.
14. Meurs H. et al. // Int. Arch. Allergy.— 1985.— Vol. 76.— P. 256—260.
15. Neifeld J. P., Lippman M. E., Tormey D. C. // J. biol. Chem.— 1977.— Vol. 252.— P. 2972—2977.
16. Rosenthal H. E. // Analyt. Biochem.— 1967.— Vol. 26.— P. 525—532.
17. Rosewicz S. et al. // J. biol. Chem.— 1988.— Vol. 263.— P. 2581—2584.
18. Sapolsky R. M., Krey L. C., McEwen B. // Endocrinology.— 1984.— Vol. 114.— P. 287—292.
19. Scatchard G. // Ann. N. Y. Acad. Sci.— 1949.— Vol. 51.— P. 660—672.
20. Schlechte J. A., Ginsberg B. H., Sherman B. M. // J. Steroid. Biochem.— 1982.— Vol. 16.— P. 69—74.
21. Singh V. B., Moudgil V. K. // J. biol. Chem.— 1985.— Vol. 260.— P. 3684—3690.
22. Smith K. A. et al. // Nature.— 1977.— Vol. 267.— P. 523—526.
23. Szentivanyi A. // J. Allergy.— 1968.— Vol. 42.— P. 203—232.
24. Taki F. et al. // Amer. Rev. resp. Dis.— 1986.— Vol. 133.— P. 362—366.

Поступила 11.09.91

THE MECHANISMS OF STRESS AND ADAPTIVE RESPONSE IN BRONCHIAL ASTHMA

A. G. Chuchalin, T. A. Cheglakova, B. I. Shmushkovich

Summary

The present study was conducted to investigate into the probable mechanisms of stress and adaptive response to it in bronchial asthma (BA) by means of evaluation of the functional state of betaadrenergic reception by the level of adrenalin-stimulated CAMP and glucocorticoid reception by the number of binding sites-glucocorticoid receptors (GCR) — and dissociation constant in peripheral blood lymphocytes. Adrenal function was evaluated by plasma cortisol level before breakfast. Correlations of those parameters were analysed in exacerbation and in clinical remission. The results of the study showed, that desensitization of beta-adrenergic reception (suppression of stimulated CAMP) in BA patients may be regarded as an endogenic biochemical inductor of stress, causing an adaptive increase of cortisol production. The latter is accompanied by increased GCR number in exacerbation, which can be one more mechanism of adaptive response to stress in BA patients.