

УДК : 616.24:611.018.7:612.61+616-001

Динамика тестостерон-зависимой функциональной активности клеточного иммунитета в зависимости от уровня поражения позвоночника у больных с нейротравмой и хроническим обструктивным заболеванием легких

В. П. Устюжанин

*Сакский центральный военный клинический санаторий, г. Саки***Ключевые слова:** травматическая болезнь спинного мозга, клеточный иммунитет, хроническое обструктивное заболевание лёгких

Состояние нервной системы во многом определяет вероятность возникновения воспаления в органах дыхания и степень выраженности повреждения ткани. Это понятно, если учесть, что интегральным проявлением нарушения нервнотрофических и других связей нейронов и клеток-мишеней служит снижение их устойчивости к разным повреждающим факторам. У больных с нейротравмой нередки ситуации, в которых обычные, не повреждающие в норме воздействия вызывают альтерацию [1]. Эти данные соответствуют результатам многочисленных клинических наблюдений, в которых снижение общей резистентности организма вследствие старения, тяжелых неврозов и заболеваний центральной и периферической нервной системы способствует увеличению частоты возникновения и тяжести течения воспалительных процессов [6, 7, 11].

При определении распространенности легких симптомов у лиц с хронической травмой спинного мозга установлено, что у 68 % обследованных отмечался один или несколько респираторных симптомов. Такая наиболее распространенная жалоба, как одышка была ассоциирована с уровнем поражения и встречалась в 73 % случаев у больных с высокой тетраплегией, в 58 % – с низкой тетраплегией [21]. Одним из объяснений высокой частоты развития неспецифических воспалительных заболеваний у больных с нейротравмой служит развивающийся у них выраженный эндокринный дисбаланс. Так, травма спинного мозга у больных мужского пола приводит прежде всего к стойкой дисфункции гипофизарно-гонадной

оси, включая формирование гипогонадизма [5, 15, 17].

Еще одной важной особенностью травматической болезни спинного мозга является нарушение функции внешнего дыхания, в том числе за счет развития дисфункции дыхательных мышц. Так, по данным спирографии у больных с травмой спинного мозга ФЖЕЛ, ОФВ1, пиковая экспираторная скорость выдоха и максимальная вентиляция легких обратно коррелируют с уровнем поражения (чем более высоким был уровень поражения, тем более низким – значение параметра) [12]. В этой связи необходимо упомянуть, что у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОЗЛ) анаболические стероиды способствуют повышению мышечной массы и улучшению силы дыхательных мышц [16].

Таким образом, важной "точкой соприкосновения" при спинальной травме, ХОЗЛ и легочной недостаточности, по нашему мнению, может являться коррекция гипогонадизма, позволяющая, в частности, уменьшать респираторную дисфункцию. Вопросы иммуоактивного влияния андрогенов у больных с ХОЗЛ и нейротравмой в научной литературе не освещены. Интерес же к изучению иммуотропного действия гормонов репродуктивной сферы обусловлен, в частности, наличием специфических мест связывания (рецепции) для всех классов стероидных (в том числе половых) и ряда других гормонов не только внутри большинства клеток, включая иммуокомпетентные, но и на плазматических мембранах. [8]. Это еще раз доказывает, что зрелые иммуоциты (не являющиеся эффекторны-

ми клетками для репродуктивных гормонов в традиционном "эндокринологическом" трактовании) способны воспринимать и реагировать на гормональный сигнал.

Учитывая вышесказанное, общей целью исследования явилось научное обоснование целесообразности использования и оценка клинической эффективности применения анаболических стероидов в комплексном лечении ХОЗЛ у мужчин с травматической болезнью спинного мозга в позднем восстановительном периоде. В рамках указанной цели в статье представлены результаты исследования у подобных больных особенностей иммунного статуса, а также влияния человеческого тестостерона на экспрессию лимфоцитами поверхностных идентификационных маркеров CD3+, CD4+ в витральном "нагрузочном" эксперименте.

Материал и методы исследования

Под наблюдением состояло 158 больных мужского пола (в возрасте 28–40 лет) в позднем восстановительном периоде травматической болезни спинного мозга и находившихся на лечении в Сакском центральном военном клиническом санатории (Саки). Все обследованные больные были разделены на следующие группы: 1-я группа – 30 лиц с травматической болезнью спинного мозга с поражением шейного отдела позвоночника, без патологии органов дыхания; 2-я группа – 22 спинальных больных с уровнем поражения – шейный отдел, страдающих ХОЗЛ; 3-я группа – 28 лиц с травматической болезнью спинного мозга с поражением

Табл. 1

Динамика содержания CD3+ и CD4+ под влиянием тестостерона у больных 1-й - 6-й групп, %

Группа	Стат. показ.	Опыт 1(CD3+)	Опыт 2(CD3+)	Опыт 1(CD4+)	Опыт 2(CD4+)
1-я группа	M ± m n p p1	58,6 ± 3,2 30 < 0,5 -	61,0 ± 3,6 30 > 0,5 > 0,5	39,6 ± 2,2 30 < 0,5 -	41,6 ± 3,1 30 > 0,5 > 0,5
2-я группа	M ± m n p p1 p2	49,7 ± 2,2 22 < 0,01 < 0,05	57,4 ± 3,1 22 < 0,5 < 0,05 < 0,5	32,5 ± 1,9 22 < 0,001 < 0,02	38,6 ± 2,2 22 < 0,2 < 0,05 < 0,5
3-я группа	M ± m n p p1	60,6 ± 3,7 28 > 0,5 -	63,2 ± 3,8 28 > 0,5 > 0,5	41,0 ± 2,5 28 > 0,5 -	40,2 ± 3,0 28 < 0,5 > 0,5
4-я группа	M ± m n p p1 p2	45,3 ± 2,8 26 < 0,001 - < 0,001	56,8 ± 3,9 26 < 0,5 < 0,02 < 0,5	31,2 ± 2,0 26 < 0,001 - < 0,01	39,1 ± 2,5 26 < 0,2 < 0,02 > 0,5
5-я группа	M ± m n p p1	56,0 ± 3,3 31 < 0,2 -	58,1 ± 4,1 31 < 0,5 < 0,5	41,8 ± 2,7 31 > 0,5 -	39,7 ± 2,4 31 < 0,5 > 0,5
6-я группа	M ± m n p p1 p2	50,2 ± 3,5 21 < 0,02 - < 0,5	56,6 ± 4,0 21 < 0,5 < 0,5 > 0,5	34,0 ± 2,3 21 < 0,01 < 0,05	40,8 ± 2,7 21 < 0,5 < 0,1 > 0,5
Здоровые	M ± m n	63,6 ± 4,3 26		43,4 ± 2,1 26	

Примечание: p - достоверность различий, высчитанная в сравнении с контрольной группой (здоровые лица), p1 - достоверность различий, высчитанная в сравнении с опытом 1(CD3+) в той же группе, p2 - достоверность различий, высчитанная в сравнении с соответствующим показателем у больных 1-й и 2-й, 3-й и 4-й, 5-й и 6-й групп.

грудного отдела позвоночника, без патологии органов дыхания; 4-я группа – 26 больных с травматической болезнью спинного мозга с уровнем поражения – грудной отдел, страдающих ХОЗЛ; 5-я группа – 31 больной с травматической болезнью спинного мозга с уровнем поражения – поясничный отдел, без патологии органов дыхания; 6-я группа – 21 больной с травматической болезнью спинного мозга с поражением поясничного отдела позвоночника и ХОЗЛ. Контрольную группу составили 26 здоровых лиц в возрастном диапазоне 30–50 лет.

У всех обследованных лиц с ХОЗЛ при поступлении в Сакский центральный военный клинический санаторий зарегистрирована ремиссия ХОЗЛ, поэтому идентификация степени тяжести заболевания проводилась непосредственно при поступлении при стабильном клиническом состоянии и отсутствии основных проявлений обострения воспалительного процесса в бронхолегочной системе [2, 10]. Материалом исследования служила кровь.

Для определения субпопуляций лимфоцитов по дифференцировочным антигенам (CD3+, CD4+) использован метод мембранной иммуофлюоресценции с применением гибридных моноклональных антител к лейкоцитарным дифференцировочным антигенам и антигенам активации серии LT предприятия "Сорбент" (Институт иммунологии РАМН, Москва). Дополнительно нами исследовались показатели CD3+ и CD4+ в

вариантах "нагрузочных тестов" с преинкубацией клеток с гормонами в следующей серии условно пронумерованных опытов: опыт 1(CD): суспензия мононуклеаров) определение CD; опыт 2(CD): суспензия мононуклеаров) преинкубация лимфоцитов с 3,5 мкг/мл человеческого тестостерона (TESTOSTERONE, PURITY BY HPLC 99,6%, SIGMA, США) в среде 199 в течение 30 мин в термостате при 37°C С отмывание клеток т определение CD.

Определяли индексы: индуцированной неспецифической Т-хелперной активности (ИИНТХЕЛП.), эндотоксин(ЭТ)–индуцированной хелперной активности (ЭТ-ИИНТХЕЛП.), неспецифической Т-супрессорной активности (ИИНТСУПР.) и ЭТ–индуцированной супрессорной активности (ЭТ-ИИНТСУПР.) [14, 19]. ЭТ получали из штаммов E.coli K 30 и С 600(lux)(R-мутанты) по методу Westphal O. [22].

Результаты и обсуждение

Результаты экспериментов, характеризующих динамику экспрессии Т-лимфоцитарных поверхностных клеточных маркеров CD3+ и CD4+ у больных 1-й – 6-й групп под влиянием преинкубации клеток с тестостероном представлены в Табл. 1

Из представленных в табл. 1 данных видно, что содержание CD3+-лимфоцитов у больных с травматической болез-

нью спинного мозга без бронхолегочного заболевания (1-й, 3-й и 5-й групп) при поступлении в санаторий не выходит за пределы физиологического диапазона и существенно не меняется в инкубационных моделях с тестостероном. У больных ХОЗЛ с нейротравмой в анамнезе (2-я, 4-я и 6-я группы) при поступлении в санаторий выявлено статистически значимое снижение показателя CD3+ на 21,1–28,8 % (p < 0,02). Установлено также, что у больных 2-й и 4-й групп тестостерон оказывает модулирующее влияние экспрессию лимфоцитами поверхностных идентификационных маркеров CD3+.

Указанные факты свидетельствуют, что у больных ХОЗЛ имеет место модификация рецепторного поля Т-лимфоцитов, характеризующаяся снижением экспрессии пан-Т-клеточных идентификационных маркеров – CD3+-рецепторов. С другой стороны, полная отмена модификации рецепторного поля лимфоцитов (по показателю CD3+) под влиянием андрогена документирует действенный функциональный резерв Т-клеточного звена иммунитета у больных травматической болезнью спинного мозга и ХОЗЛ.

Содержание CD4+-лимфоцитов (опыт 1(CD4+)) у больных с травматической болезнью спинного мозга без хронической бронхообструктивной патологии (1-я, 3-я и 5-я группы) не выходит за пределы диапазона физиологических колебаний, а у больных с сочетанной спинальной и бронхолегочной патологией (2-я, 4-я и 6-я группы) – снижено на 28,1–21,7 % (p и p2 < 0,05). Установлено также, что в нагрузочной экспериментальной модели с тестостероном (опыт 2(CD4+)) у больных 1-й, 3-й и 5-й групп половой стероид не оказывает существенного влияния на исследуемый показатель, а у больных 2-й, 4-й и 6-й групп – способствует возвращению экспрессии CD4+-рецепторов к физиологическому уровню.

Таким образом, нами обнаружено гормоно(тестостерон)-опосредованное модулирующее влияние на такую основную иммунорегуляторную субпопуляцию лимфоцитов, как Т-хелперы/индукторы при использовании метода мембранной иммуофлюоресценции. При этом "регламентирующим" иммуоактивное влияние полового стероида условием является исходное (до постановки эксперимента) снижение секреции эндогенного тестостерона (гипергонадотропный гипогонадизм у больных 1-й–4-й групп). Эти факты целесообразно рассмотреть в аспекте очевидной противоречивости результатов опубликованных научных работ (разнонаправленные эффекты гормонов), посвященных эндокринным воздействиям на иммунную систему, что объясняется в настоящее время исходным (до проведения эксперимента) состоянием последней, дозозависимым эффектом и особенностями построения биологической модели экспериментов [9]. С другой стороны, зависи-

Табл. 2

Неспецифическая и ЭТ-индуцированная хелперная и супрессорная функциональная активность лимфоцитов у больных 1-й и 2-й групп при поступлении в санаторий, %

Группа	Стат. показатель	ИИНТХЕЛП.	ЭТ-ИИНТХЕЛП.	ИИНТСУПР.	ЭТ-ИИНТСУПР.
1-я группа	M ± m n p	23,1 ± 1,3 30 > 0,5	19,3 ± 1,2 30 > 0,5	36,6 ± 1,9 30 < 0,5	30,6 ± 1,6 30 < 0,02
2-я группа	M ± m n p p1	18,5 ± 1,1 22 < 0,05 < 0,01	25,9 ± 1,2 22 < 0,02 < 0,001	32,1 ± 2,2 22 < 0,02 < 0,2	26,3 ± 1,2 22 < 0,001 < 0,05
3-я группа	M ± m n p	22,9 ± 1,4 28 > 0,5	18,5 ± 0,9 28 < 0,5	38,1 ± 2,1 28 > 0,5	31,4 ± 1,6 28 < 0,05
4-я группа	M ± m n p p1	17,7 ± 0,9 26 < 0,01 < 0,01	25,3 ± 1,3 26 < 0,05 < 0,001	30,3 ± 1,7 26 < 0,01 < 0,01	27,3 ± 1,2 26 < 0,001 < 0,05
5-я группа	M ± m n p	23,8 ± 1,4 31 > 0,5	19,0 ± 1,0 31 > 0,5	35,7 ± 2,0 31 < 0,01	31,1 ± 1,5 31 < 0,05
6-я группа	M ± m n p p1	18,1 ± 1,1 21 < 0,02 < 0,01	26,0 ± 1,4 21 < 0,02 < 0,001	28,6 ± 2,1 21 < 0,001 < 0,02	25,8 ± 1,3 21 < 0,001 < 0,01
Здоровые лица	M ± m n	23,5 ± 1,9 26	20,4 ± 1,8 26	40,2 ± 2,6 26	37,1 ± 2,2 26

Примечание: p - достоверность различий, высчитанная в сравнении с соответствующим показателем в контрольной группе (здоровые лица), p1 - достоверность различий, высчитанная между соответствующими показателями у больных 1-й и 2-й, 3-й и 4-й, 5-й и 6-й групп.

мость эффекта иммунокоррекции (включая экстраиммунную) также определяется не только фармакологической профилем препаратов, но и исходным характером иммунологических расстройств [4]

В настоящее время в связи с открытием Т-хелперов (Тх) 1-го и 2-го типа [20] супрессорная функция Т-лимфоцитов является наиболее дискуссионной. Поэтому для оценки функциональных свойств основных иммунорегуляторных субпопуляций лимфоцитов нами исследована неспецифическая и ЭТ-индуцированная хелперная и супрессорная активность лимфоцитов. Известно, что баланс между Тх 1-го и Тх 2-го типа поддерживается регуляторными цитокинами [13]. Так, переключение развития иммунного ответа по клеточному типу, за который отвечают Тх 1-го типа, осуществляется регуляторными цитокинами – ИЛ-12 (макрофагального происхождения) и ф ИФ (Тх 1-го происхождения). С другой стороны, Тх 2-го типа продуцируют ИЛ-10, который является супрессорным цитокином по отношению Тх 1-го типа [18, 3].

Результаты исследования неспецифической и ЭТ-индуцированной хелперной и супрессорной функциональной активности лимфоцитов представлены в Табл. 2

Как следует из цифрового материала, представленного в табл. 2, у больных с травматической болезнью спинного мозга без ХОЗЛ (1-я, 3-я и 5-я группы) показате-

ли ИИНТХЕЛП., ЭТ-ИИНТХЕЛП., ИИНТСУПР. не выходят за пределы диапазона физиологических колебаний, а ЭТ-ИИНТСУПР. снижен на 17,5% (p < 0,02). У больных 2-й, 4-й и 6-й групп выявлено уменьшение функциональной активности Т-Т-индуцированных хелперов на 24,7–21,3 % (p < 0,05), возрастные Т-В-индуцированной хелперной активности на 27,5–24,0 % (p < 0,05), снижение Т-Т индуцированной супрессорной активности и Т-В индуцированной супрессорной активности соответственно на 28,9–20,1 % (p < 0,02) и 30,5–26,4 % (p < 0,001).

Выводы

1. Эндокринный контроль функциональной активности иммунной системы реализуется, в том числе, на уровне гормонов репродуктивной сферы – тестостерона. Иммуноактивное влияние последнего "регламентируется" исходной (до постановки витральных экспериментов) функциональной активностью клеточно-иммунитета.

2. У больных ХОЗЛ, протекающим у лиц с травматической болезнью спинного мозга использование заместительной терапии тестостероном с целью экстраиммунной иммунокоррекции патофизиологически обосновано.

Литература

1. Блинова Е.И. К экспериментальному обоснова-

нию патогенеза нейрогенных артропатий. – В кн.: Нарушение механизмов регуляции и их коррекция. – Т. 1. – М.: Медицина, 1989. – С.9.

2. Бронхиальная астма, хронический бронхит, пневмония – случаи выявления проблемы / Ю.И. Феценко, В.М. Мельник, В.М. Петренко, В.П. Мельник // *Матер. наук. праць II з'їзду фтизіатрів та пульмонологів України.* – К. – 1998. – С.10–16.

3. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и алергология. – Одесса: «АстроПринт», 1999. – 604 с.

4. Земсков В.М., Земсков А.М. Принципы дифференцированной иммунокоррекции // *Иммунология.* – 1996. – №3. – С.4–10.

5. Зиновьев А.С., Колонов А.В. Хроническое воспаление слизистых оболочек: интеграция иммунитета и регенерации // *Архив патологии.* – 1997. – Т.59. – №3. – С.18–24.

6. Клиническая иммунология. Руководство для врачей / Под ред. Е.И.Соколова. – М.: Медицина, 1998. – 272 с.

7. Розов К.А. Воспаление в пожилом и старческом возрасте // *Воспаление. Руководство для врачей.* / Под ред. В.В.Серова, В.С.Паукова. – М.: Медицина, 1995. – С.311–325.

8. Сергеев П.В., Духанин А.С., Шимановский Н.А. Плазматическая мембрана клетки-мишени и стероидные гормоны: начало спора или его завершение? // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 1995. – №10. – С.342–348.

9. Теттермен Дж., Теттермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы: Пер. с англ. – М.: Мир, 1989. – 653 с.

10. Феценко Ю.И., Мельник В.М. Проблемы туберкулеза та неспецифічних хвороб органів дихання в Україні // *Матер. наук. праць II з'їзду фтизіатрів та пульмонологів України.* – К. – 1998. – С.95–97.

11. Хмельницький О.К., Ступина А.С. Фундаментальная морфология эндокринной системы при атеросклерозе и старении. – М.: Медицина, 1989. – 248 с.

12. Almenoff P.L., Spungen A.M., Lesser M. Pulmonary function survey in spinal cord injury: influences of smoking and level and completeness of injury // *Lung.* – 1995. - Vol.173, №5. – P.297–306.

13. Amnon A. Signaling differences between Th1 vs Th2 lymphocytes // *Postgraduate syllabus 56th Annual Meeting Amer. Acad. of Allergy Asthma and Immunol. March 3– March 8 – 2000.* – San Diego. – 227–250.

14. Boriani S., Palmisani M., Donati U. The treatment of thoracic and lumbar spine fractures: a study of 123 cases treated surgically in 101 patients // *Chir. Organi Mor.* – 2000. - Vol.85, №2. – P.137–149.

15. Brackett N.L., Lynne C.M., Weizman M.S. Endocrine profiles and semen quality of spinal cord injured men // *J. Urol.* – 1994. - Vol.151, №1. – P.114–119.

16. Casaburi R. Rationale for anabolic therapy to facilitate rehabilitation in chronic obstructive pulmonary disease // *Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.* – 1998. - Vol.12, №3. – P.407–418.

17. Cortes-Gallegos V., Castaneda G., Alonso R. Diurnal variations of pituitary and testicular hormones in paraplegic men // *Arch. Androl.* – 1996. - Vol.8, №3. – P.221–226.

18. Gupta S., Schwartz S.A., Good R.A. Subpopulation of human T-lymphocytes. – Cellular basis of Concanavalin A-induced T-cell-mediated suppression of immunoglobulin production by B-lymphocytes from normal humans // *Cell. Immunol.* – 1979. – Vol. 44. – № 2. – P. 242–25.

19. Moller G., Yammarmstrom L., Moller E., Persson U., Smith E. Lymphocyte activation by Concanavalin A // *Proceedings of the Fourth European Immunology Meeting.* – Budapest, 1978. – P. 178–189.

20. Romagnani S. Lymphokine production by human T cells in disease state // *Annu. Rev. Immunol.* – 1994. – №12. – P. 227–257.

21. Self-reported prevalence of pulmonary symptoms in subjects with spinal cord injury / A.M.Spungen, D.R.Grimm, M.Lesser, W.A.Banman, P.L.Almenoff // *Spinal Cord.* – 1997. - Vol.35, №10. – P.652–657.

22. Westphal O. Bacterial endotoxins: chemical and clinical aspects / *Weinheim.* – 1984. – Vol.11, №6. – P.3–10.

Динаміка тестостерон-залежної функціональної активності клітинного імунітету в залежності від рівню ураження хребта у хворих з нейротравмою і хронічним обструктивним захворюванням легенів

В. П. Устюжанін

У хворих чоловічої статі, страждаючих на хронічне обструктивне захворювання легенів, що протікає на тлі спінальної травми, вивчено достаток клітинного імунітету і вплив тестостерона на експресію поверхневих ідентифікаційних маркерів CD3+, CD4+ у вітральному експерименті. Встановлено, що у хворих на травматичне ураження спинного мозку ендокринний контроль функціональної активності імунної системи реалізується на рівні гормону репродуктивної сфери тестостерону. Імуноактивний вплив останнього залежить від початкової (до постановки вітральних експериментів) функціональної активності клітинного імунітету. Виявлений імуноактивний вплив тестостерона обумовлює доцільність корекції його системного рівня при поєднаному перебігу нейротравми і хронічній бронхообструктивній патології.

Ключові слова: травматична хвороба спинного мозку, клітинний імунітет, хронічне обструктивне захворювання легенів.

The influence of the level of spinal cord injury upon the dynamics of testosterone-dependent functional activity of the cell immunity in patients with chronic obstructive pulmonary disease

V. P. Ustyuzhanin

The cell immunity and the influence of testosterone upon the CD3+, CD4+ expression in vitro were studied in male patients with chronic obstructive pulmonary disease and spinal cord injury. It is established that endocrine control of the functional activity of immune system in patients with spinal cord trauma is realized at the reproductive hormones (testosterone) level. The influence of testosterone on immune system depends on previous (before in vitro tests) condition of the functional activity of the cell immunity. The revealed influence of testosterone on immune system demonstrates the advisability of systemic testosterone level correction in case of combined course of spinal cord injury and chronic bronchial obstructive pathology.

Key words: spinal cord injury, cell immunity, and chronic obstructive pulmonary disease.