

УДК 615.83:616-003.96-058.86:612.015

# Состояние гормонального статуса и цитохимических показателей крови как критерии оценки адаптационных процессов

Н.Н. Каладзе, Л.П. Колбасина, М.В. Колбасина, Т.П. Сатаева

*Крымский государственный медицинский университет им.С.И. Георгиевского, Симферополь***Ключевые слова:** адаптация, кортизол, АКТГ

**А**даптация, как одно из фундаментальных свойств живой материи, является результатом и средством разрешения внутренних и внешних противоречий жизни, она существует и формируется на грани жизни и смерти, здоровья и болезни, за счет из столкновения и взаимоперехода[4]. Гомеостаз и адаптация – это взаимосвязанные и дополняющие друг друга процессы. [1,2,3].

Общий адаптационный синдром [5, 6] облегчает деятельность перенапряженных структур биосистемы и поэтому является рациональным и биоэнергетически целесообразным. Однако адаптированность организма к новым условиям достигается ценой «биосоциальной» платы, которая зависит от резервов организма.

Адаптация на курорте – процесс приспособления организма к новым условиям окружающей среды, в которых происходят лечение и отдых.

Адаптация детей из разных регионов к новым климатогеогра-

фическим, социальным и психофизиологическим условиям многими исследователями на протяжении продолжительного времени выделяется в самостоятельную проблему, которая включает вопросы адаптации новым социальным и климато-погодным условиям, лечебным и оздоровительным воздействиям. [10, 11]. В норму срок развития адаптивных реакций не превышает 3-е суток.

Обследование детей и подростков выявило, что у многих есть отклонения от «нормы» адаптационных реакций, даже при отсутствии определенных заболеваний. Исследования, проведенные в различных санаториях, показали, что лишь у небольшой части детей стойко держалась основная составляющая нормальной адаптации – реакция активации или тренировки. У остальных происходило чередование различных реакций, переходящих в дизадаптацию и стресс[3].

Стресс – это сложившаяся в процессе эволюции общая неспеци-

фическая адаптационная реакция в ответ на действие сильных раздражителей любой природы, реакция, в которой защита переплетается с повреждением.

В зависимости от изменений длительности во времени и силы стресс-фактора адаптивные эффекты стресс-реакции могут переходить в повреждающие и превращаться в общее звено патогенеза различных заболеваний [7, 8]. Как реализация, так и ограничение стрессорных проявлений на уровне целостного организма происходит с обязательным вовлечением в процесс основных регулирующих систем: нервной, иммунной и эндокринной, что, в первую очередь, отражается на гипофизарно-надпочечниковой оси [9]. Следовательно, вопрос о том, является ли адаптация организма к новым условиям нормальной или патологической, может быть решен только на основе глубокого изучения механизмов адаптации, а также процессов, происходящих в организме и, в первую очередь, в эндокринной системе [10, 11].

Исходя из вышесказанного, целью нашего исследования явилась оценка изменения уровня «стрессовых» гормонов гипофизарно-надпочечниковой оси (кортизол и адренкортикотропного гормона (АКТГ)), цитохимическое исследование уровня активности дегидрогеназ, значения которого рассматривались, как неспецифический показатель повреждения клеток, а также обоснование необходимости разработки и применения физиотерапевтических и медикаментозных методов быстрой и высокоэффективной коррекции дизадаптации у детей, длительно и часто болеющих с явлениями нарушения адаптационных процессов.

## Материал и методы

Обследовано 147 детей обоего пола в возрасте от 7 до 14 лет, прибывших из разных регионов Украины и поступивших в евпаторийские санатории «Юбилейный», «Смарагдовый» и «Лучезарный» на санаторно-курортный этап лечения. Все исследуемые отнесены к категории длительно и часто болеющих (ДЧБ) (более 4-5 раз в год, в основном, заболеваниями назофарингеальной области).

Общие данные, отражающие возрастной и половой состав детей с дизадаптацией представлены в таблице 1.

Определение количественной концентрации кортизола и АКТГ в плазме крови проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа, которым определяли количественную концентрацию кортизола в сыворотке крови. С целью измерения биоло-

гически активной молекулы АКТГ (39 аминокислотных остатков) использовали поликлональные козы антитела к АКТГ человека, очищенные методом аффинной хроматографии, и мышиные моноклональные антитела к хорошо охарактеризованным участкам молекулы АКТГ.

Образцы сыворотки хранились в замороженном состоянии с добавлением ЭДТА при  $t=-20^{\circ}\text{C}$ . Применялись тест-системы, предназначенные для количественного определения концентрации данных гормонов в сыворотке или плазме крови (производители – ООО «Хема-Медика» г.Москва, «Стероид ИФА – Кортизол -01» ЗАО «Алкор Био» г. Санкт-Петербург (для определения концентрации кортизола), а также «Sangui Biotech, Inc.», USA и «Biomerica», USA, для определения концентрации АКТГ).

Полученные в процессе исследования данные обрабатывались методом математической статистики. Оценка общего качества полученной модели проводилась с учетом достоверности по уровню значимости критерия Фишера (F). Достоверными считали показатели при  $P<0,05$ .

Цитохимический метод исследования активности дегидрогеназ основан на исследовании ферментов цикла Кребса: сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ).

При патологических состояниях, данные ферменты из клеток «вымываются» в кровь; их активность при этом резко возрастает – они являются индикаторами степени и глубины повреждения.

Дегидрогеназы отщепляют от

соответствующего субстрата водород, который затем акцептируется переносчиками. Исходя из этого, сущность цитохимического метода изучения дегидрогеназ в клетках крови состоит в том, что последние должны помещаться в среду (либо подвергаться обработке), содержащую субстрат, фермент, ингибитор ферментов, краситель. В указанной среде клетки крови инкубируются в течение 45-60 минут при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ .

В наших исследованиях в качестве индикатора ферментного процесса использован нитротетразолий синий (НСТ), образующий при восстановлении в клетке мелкие гранулы формазана и окрашивает цитоплазму от дымчато-серого до насыщенного синего цвета. В работе использовали тонкие нативные мазки крови, высушенные на воздухе, которые после соответствующей обработки инкубировали в течение 45 мин при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ . Ядра клеток докрашивали раствором метилового зеленого. Высушенные мазки микроскопировали с иммерсионным объективом на микроскопе МБИ-15. Приготовленные растворы реактивов в соответствующих концентрациях и объемах наносили на мазок в следующей последовательности.

## Определение активности ЛДГ

Применяемые растворы: цианида натрия, лактата натрия, НСТ, гемодез, никотинамидадениндинуклеотида (НАД). Последний готовили непосредственно перед применением. Отложение гранул

Табл. 1.

Распределение детей с дизадаптацией по полу и возрасту

Возраст Пол	7-8 лет		9-10 лет		11-12 лет		13-14 лет	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Мальчики	10	8,4	17	11,6	25	17	20	13,6
Девочки	6	4,1	13	8,8	13	8,8	43	29,2
Всего	16	10,9	30	20,4	38	25,8	63	42,8

**Показатели центральных гормональных компонентов стресс-реализующей системы у детей, длительно и часто болеющих, в динамике**

Показатель	Сроки наблюдения (сутки)						
	На момент поступления в санаторий	3-и	5-е	7-е	10-е	14-е	16-е
Кортизол (нмоль/л)	239,34±19,18 P <sub>1</sub> <0,05	240,96±15,60 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	241,81±15,50 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	243,74±14,60 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> <0,05	261,18 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> <0,05	278,14 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> >0,05	282,31 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> >0,05
АКТГ (пг/мл)	52,88±10,84 P <sub>1</sub> <0,01	49,65±20,70 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	47,88±16,40 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> <0,05	47,32±15,50 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> <0,05	44,21 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> >0,05	43,12 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> >0,05	42,24 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> >0,05
Контроль (здоровые) n = 147	Кортизол = 285,43±21,30 АКТГ = 41,12±11,65						

P<sub>1</sub>- достоверность по отношению к контролю.

P<sub>2</sub> - достоверность по отношению к показателям на момент поступления в санаторий.

формаза на наблюдалось в местах локализации ЛДГ. Интенсивность окраски варьировала от дымчато-серого до интенсивного синего цвета.

### Определение активности СДГ

Растворы: НСТ, сукцинат натрия, фосфатного буфера. Отмечалась четкая локализация гранул формаза. Об активности СДГ судили по интенсивности отложенных гранул формаза.

Для оценки активности ферментов в клетках крови мы вычисляли средний цитохимический показатель (СЦП) по формуле (1):

$$СЦП =$$

$$((X_1*1)+(X_2*2)+(X_3*3)+(X_4*4))/100$$

где X - количество клеток из 100 просмотренных нейтрофилов в одном мазке с определенной степенью активности фермента; 1, 2, 3, 4 - степень активности; 100 - число просмотренных нейтрофилов в одном мазке.

При этом выделяли четыре степени активности (4<sub>СТ</sub> - нейтрофил полностью покрыт гранулами формаза; 3<sub>СТ</sub> - 3/4 активности; 2<sub>СТ</sub> - 1/2 активности и 1<sub>СТ</sub> - 1/4 активности).

### Результаты и обсуждение

При анализе центральных гормональных компонентов (кортизола и АКТГ) у детей, длительно и часто болеющих, на момент прибытия на санаторно-курортный этап лечения выявлен значительный гормональный дисбаланс. Так содержание кортизола составило 239,34±19,18 нмоль/л, что было на 16,2% ниже контрольных показателей (P<sub>1</sub><0,05), а уровень АКТГ составлял 52,88±10,84 пг/мл, это было на 28,5% (P<sub>1</sub><0,05) выше контроля. С третьих по седьмые сутки пребывания на санаторно-курортном лечении у детей, длительно и часто болеющих, гормональный дисбаланс менялся незначительно: разница уровня кортизола между третьими и пятыми сутками составила 0,3%, а уровень АКТГ снизился к пятым суткам на 4,3%. По сравнению с показателями на момент поступления уровень кортизола увеличился на 1%, АКТГ - на 2,5% (P<sub>2</sub><0,05). К седьмым суткам содержание кортизола было ниже контроля на 14,6%, при этом P<sub>1</sub> носило статистически недостоверный характер, а содержание АКТГ было выше на 15,1% (P<sub>1</sub><0,05). По сравнению с моментом прибытия уровень кортизола

повысился на 10%, а уровень АКТГ - на 16,4% (P<sub>2</sub><0,05).

Десятые сутки явились переменными сроками, когда наблюдалось улучшение гормональных показателей, которые к этому сроку по отношению к контролю приобретали недостоверный характер (P<sub>1</sub>>0,05). Разница с показателями на момент поступления составила для кортизола 9,1% (P<sub>2</sub><0,05), для АКТГ -16,4% (P<sub>2</sub>>0,05).

В дальнейшем, на 14-16-е сутки показатели кортизола и АКТГ практически не отличались от контроля: к 14-м суткам содержание кортизола превышало уровень контроля на 2,55%, а содержание АКТГ - на 4,86%. К 16-м суткам эта разница для уровня содержания кортизола в крови составляла 1,1%, а для уровня АКТГ -2,7% по сравнению с контролем. По сравнению с показателями на момент поступления к 14-м суткам уровень кортизола увеличился на 16,2%, АКТГ - на 18,5%, а на 16-е сутки изменения составляли 18% и 20,1% соответственно (P<sub>2</sub>>0,05).

При анализе ферментативной активности нейтрофилов периферической крови у детей длительно-

**Цитохимические показатели нейтрофилов периферической крови у детей длительно и часто болеющих, в динамике**

Показатель	На момент поступления в санаторий	Сроки наблюдения (сутки)					
		3-и	5-е	7-е	10-е	14-е	16-е
СЦП СДГ	1,52±0,08 P <sub>1</sub> <0,05	1,51±0,06 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	1,54±0,09 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	1,57±0,08 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	1,59±0,07 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	1,77±0,06 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> >0,05	1,83±0,08 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> >0,05
СЦП ЛДГ	2,63±0,13 P <sub>1</sub> <0,05	2,66±0,11 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	2,65±0,12 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	2,63±0,12 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	2,61±0,14 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05	2,47±0,13 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> <0,05	2,31±0,12 P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>2</sub> >0,05
Контроль (здоровые) n = 147	СЦП СДГ = 1,88±0,07 СЦП ЛДГ = 2,26±0,14						

P<sub>1</sub> - достоверность по отношению к контролю.

P<sub>2</sub> - достоверность по отношению к показателям на момент поступления в санаторий.

но и часто болеющих на санаторно - курортный этапе лечения, выявлено, что на момент принятия в санаторий у изучаемой категории детей выявлен статистически значимый дисбаланс. Так средний цитохимический показатель (СЦП) СДГ был ниже контроля на 19,1% (P<sub>1</sub><0,05), а СЦП ЛДГ выше контроля на 16,4% (P<sub>1</sub><0,05). При сравнении с показателями на момент прибытия СЦП СДГ и СЦП ЛДГ на 5-е сутки повысились на 1% (P<sub>1</sub><0,05).

В последующие сроки наблюдений ферментативный дисбаланс наблюдался вплоть до 10 суток, где СЦП СДГ составлял 1,59±0,07 усл.ед., что было на 15,4% ниже контроля (P<sub>1</sub><0,05), а СЦП ЛДГ составлял 2,16±0,14 усл.ед., что было на 15,5% (P<sub>1</sub><0,05) выше показателей контроля. Разница с показателями на момент поступления увеличилась и составляла для СЦП СДГ 4%, а для СЦП ЛДГ -1% (P<sub>2</sub>>0,05). (Таблица 3).

В дальнейшие сроки наблюдений (14 - 16 сутки) цитохимические показатели нейтрофилов периферической крови приближались к контрольным показателям, приобретая при этом по отношению к контролю недостоверный характер. По сравнению с показателями

на момент поступления СЦП СДГ к 14-м суткам увеличился на 16,4%, нося статистически недостоверный характер, СЦП ЛДГ - на 6,5% (P<sub>2</sub><0,05), к 16-м суткам изменения показателей составляли 20,4% и 17,1% соответственно (P<sub>2</sub>>0,05).

### Выводы

1. Проведенный мониторинг центральных гормональных компонентов у детей, относящихся к категории ДЧБ, выявил, что их значение сопровождается снижением уровня кортизола и ростом АКГГ, что указывает на развитие процессов дизадаптации и стресса. Значительный дисбаланс уровня гормонов с пониженной динамикой наблюдался до 10-ти суток с последующей нормализацией к 16-м суткам.

2. Цитохимический анализ нейтрофилов периферической крови у детей длительно и часто болеющих также выявляет значительный и статистически достоверный ферментативный дисбаланс на момент поступления в санаторий, который продолжался вплоть до 10-ти суток пребывания в санатории, и только к 14 - 16-м суткам

наметилась тенденция к нормализации цитохимии периферической крови с существенными изменениями по сравнению с показателями на момент прибытия в санаторий.

3. Для проведения более эффективного санаторно-курортного лечения следует значительно сократить сроки развития адаптации, что обуславливает необходимость разработки и применения определенных методов коррекции.

### Литература

- 1.Баевский Р.М., Берсенева А.П. Адаптационный потенциал системы кровообращения и вопросы донозологической диагностики / проблемы адаптации детского и взрослого организма в норме и патологии.- Москва: АН СССР, ИГМИ.- 1990.- С.25-34
- 2.Гаркави А.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма.- Ростов-на-Дону. Изд-во Ростовского университета.-1990.-223с.
- 3.Ледович Н.Г. - Адаптационные возможности, как критерии оценки состояния здоровья детей.- Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения // Труды КГМУ им. С.П.Георгиевского.- 2004.- Т.140. Ч.III.-с.49-53.
- 4.Дичев Т.Г., Тарасов К.Е. Проблема адаптации и здоровье человека.-М.:Медицина, 1976.-127с.
- 5.Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. - М.: Наука, 1981. - 278с.
- 6.Селье Г.Очерки об адапционном синдроме

м. – М.: Медицина, 1960. - 254с.

7. Соболева Е.М., Каладзе Н.Н. Состояние основных эндокринных компонентов стресс-реализующей и стресс-лимитирующей систем у детей с бронхиальной астмой в районах радионуклидного загрязнения // Вестник физиотерапии и курортологии. -2004.-№4.- С.50.

8. Соболева Е.М., Каладзе Н.Н. Показатели вегетативного гомеостаза и гормонального статуса в оценке состояния стресс-реализующей и стресс-лимитирующей систем у детей с бронхи-

альной астмой //Таврический медико-биологический вестник. -2005.- Т.8,№2. – С.65-68.

9. Соболева Е.М., Каладзе Н.Н. состояние стресс-системы организма у детей с бронхиальной астмой, и коррекция выявленных нарушений на санаторно-курортном этапе реабилитации.// Вестник физиотерапии и курортологии.- 2005.-№1.- С.23-25.

10. Шибанов С.Э., Яценко С.Г. Эффективность комплексной физиопрофилактики дисадаптационных состояний у студентов // Вест-

ник физиотерапии и курортологии. -2003.-№4.-С.37-39.

11. Яценко С.Г. Применение некоторых физиотерапевтических методов коррекции адаптационных процессов у студентов-иностранцев, обучающихся в КГМУ с учетом биотических аспектов.// Материалы межвузовской научно-практической конференции молодых ученых, Симферополь, -2003.-С.42-47.

## Стан гормонального статусу та цитохімічних показників крові як критерії оцінки адаптаційних процесів

*М.М. Каладзе, Л.П. Колбасіна, М.В. Колбасіна, Т.П. Сатаєва*

У роботі проведений моніторинг вмісту кортизолу і АКТГ, а також дослідження цитохімічних показників крові у дітей на санаторно-курортному етапі реабілітації із синдромом дізадаптації.

Ключові слова: адаптація, кортизол, АКТГ, СДГ, ЛДГ.

## The State of the Hormonal Level and the Cytobiochemical Parametres of Blood as the Evaluation of the Adaptational Processes

*N.N. Kaladze, L.P. Kolbasyna, M.V. Kolbasyna, T.P. Satayeva*

This article is devoted to the monitoring of the hormonal level of the cortysoline and ACTH along with revealing the cytobiochemical parametres of blood of the children with the disadaptational syndrome at the period the resort treatment.

Keywords: adaptation, cortysoline, ACTH,