

EFEKAT EGZOGENOG KORTIZOLA NA NIVO SERUMSKOG KORTIZOLA

Zoran PAVLOVIĆ i Voja PAVLOVIĆ

Klinika za hematologiju i kliničku imonologiju Kliničkog centra u Nisu

Imajući u vidu rezultate dosadašnjih istraživanja efekata kortizola na nivo antitela u organizmu, proučavali smo delovanje visokih doza egzogenog kortizola na nivo serumskog kortizola. Oglede smo izvodili na zamorcima muškog pola, telesne mase od 300 do 400 g, koji su bili na normalnoj ishrani i živeli pod uobičajenim laboratorijskim uslovima. Supkutanom aplikacijom zamorci grupe A primili su po 5, grupe B po 20, grupe C po 40, grupe D po 80 mg kortizola/kg telesne težine. Zamorci kontrolne grupe primili su po 1 ml fiziološkog rastvora. Nakon šestodnevnog tretmana, kardijalnom punkcijom dobij ali smo uzorke krvi u kojima smo određivali nivo serumskog kortizola. Dobijeni rezultati pokazuju da aplikacija egzogenog kortizola dovodi do porasta njegovog nivoa u serumu svih kortizolom tretiranih zamoraca. Najveća koncentracija kortizola verifikovana je dvanaest časova nakon egzogene aplikacije kortizola. Kod zamoraca koji su primili najmanju količinu kortizola (A grupa) vrednosti serumskog kortizola su bile najniže. Sa porastom doze egzogenog kortizola progresivno raste i nivo serumskog kortizola. Najviše vrednosti egzogenog kortizola zabeležene su kod životinja koje su primile i najveću dozu kortizola (D grupa). Međutim, najniže vrednosti serumskog kortizola zabeležene su kod zamoraca kontrolne grupe. Vrednosti kortizola kod životinja kontrolne grupe su blago rastle tokom trajanja ogleada, ali taj porast nije statistički značajan.

Ovi rezultati ukazuju na činjenicu da egzogena aplikacija kortizola dovodi do promptnog porasta njegovog nivoa u serumu, maksimalan porast je posle 12 časova od aplikacije, a da potom dolazi do postepenog opadanje nivoa serumskog kortizola.

Ključne reci: egzogeni kortizol, serumski kortizol, oglead na zamorcima

Uvod

Rezultati dosadašnjih istraživanja glikokortikoida doprineli su da se razjasne mnogobrojne enigme njihove sinteze, distribucije, deponovanja i

fizioloških svojstava u organizmu. Zahvaljujući ovim nalazima otkrivene su njihove uloge u metabolizmu proteina, masti, ugljenih hidrata, vode i elektrolita, a posebno u regulaciji **homeostaze** organizma, koja je neophodna za pravilno funkcionisanje svih procesa u organizmu. Mada su poznati mnogi tkivni, celularni i subcelularni efekti glikokortikoida, njihov precizni mehanizam antiinflamatornog i imunosupresivnog efekta ni do danas nije potpuno razjašnjen.

Cilj istraživanja

U želji da doprinesemo razjašnjenju delovanja egzogenog kortizola u organizmu pokušali smo da proučimo kretanje nivoa serumskog kortizola nakon njegove egzogene aplikacije.

Materijal i metod rada

Kod 25 zamoraca muškog pola, telesne mase od 300 do 400 g, ranije ničim tretiranih, koji su bili na normalnoj ishrani i živeli pod uobičajenim laboratorijskim uslovima, ispitivali smo nivo serumskog kortizola posle supkutane aplikacije egzogenog kortizola. Sve životinje bile su podcijene u 5 grupa (A, B, C, D, K). U svakoj grupi bilo je po pet zamoraca. Zamorci grupe A primali su supkutano po 5 mg/kg kortizola (Hidrocortison, amp. a 500 mg/4 ml), zamorci grupe B po 20 mg/kg, zamorci grupe C po 40 mg/kg, a zamorci grupe D po 80 mg/kg kortizola. Zamorci kontrolne grupe (K) primali su po 1 ml fiziološkog rastvora dnevno.

Na taj način, šest dana u 9.00 časova pre podne, svakoj životinji je supkutano aplikovana odgovarajuća količina kortizola, u zadnji predeo vrata.

Šestog dana eksperimenta, odmah posle aplikacije kortizola i fiziološkog rastvora, slobodnim izborom, iz svake grupe zamoraca, uzimali smo po tri životinje. Od svake životinje, kardijalnom punkcijom, uzimali smo uzorke krvi posle 3, 6, 9, 12 i 24 časa nakon primljene doze kortizola ili fiziološkog rastvora. Posle koagulacije krvi i retrakcije koaguluma, krv je centrifugirana, 15 minuta na 3000 obrtaja, i dekantiran je serum. U svakom uzorku seruma je određivana koncentracija serumskog kortizola, koja je kao srednja vrednost prikazana za svaku grupu životinja.

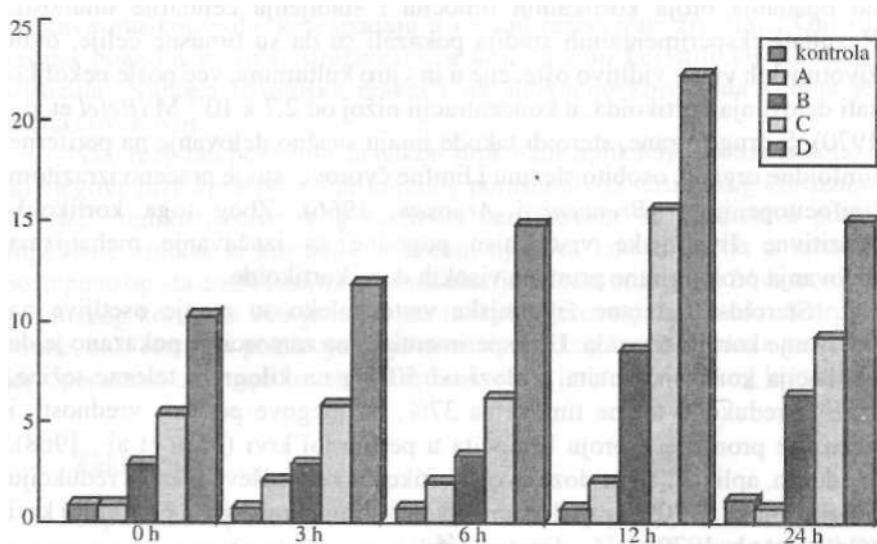
Naši rezultati

Dobijeni rezultati koncentracije serumskog kortizola prikazani su na tabeli 1.

Tabela 1. Koncentracija serumskog kortizola posle supkutane aplikacije (mikromol/l)

Grupa	br. životinja	koncentracija kortizola Oh				
		3h	6h	12h	24h	0h
K	3	0.59628	0.5981	0.6990	0.9110	0.7911
A	3	0.6068	2.2079	3.5801	2.2630	0.5897
B	3	3.3108	3.8628	5.5180	8.2780	7.4493
C	3	5.7939	7.4493	8.8292	56.5501	10.4847
D	3	11.0305	11.8600	14.8832	22.6200	14.3405

Ovi se rezultati još bolje zapažaju na grafikonu 1.



Grafikon 1

Rezultati prikazani na gornjoj tabeli i grafikonu jasno pokazuju da aplikacija kortizola dovodi do porasta njegovog nivoa u serumu svih kortizolom tretiranih zamoraca. Supkutana aplikacija dovodi do brze apsorpcije i promptnog porasta nivoa serumskog kortizola. Najveća koncentracija kortizola verifikovana je 12 časova nakon supkutane aplikacije. Sa porastom doze kortizola raste i nivo serumskog kortizola.

Diskusija

Započinjući ove oglede, pošli smo od još veoma davno uočene činjenice, da postoji razlika u osetljivosti na delovanje kortikosteroida kod

različitih životinjskih vrsta. Rezultati dosadašnjih kliničkih i eksperimentalnih studija pokazali su da se sve životinje, prema osjetljivosti na delovanje kortikoida, mogu podeliti u dve grupe: grupu steroid-senzitivnih i steroid-rezistentnih životinja. U grupi steroid-osetljivih životinja su: miš, pacov, zec i hrčak, a u grupi steroid-rezistentnih: čovek, majmun i zamorac.

Aplikacija kortikosteroida kod steroid-senzitivnih životinja brzo dovodi do rapidnog opadanja težine timusa i redukcije timusnih ćelija (*Shewal i Long*, 1956), što je i potvrđeno patohistološkim nalazima (*Claesson*, 1969) i elektronskom mikroskopijom (*Cowan*, 1964). Interesantno je da su kortikalni timociti izuzetno osetljivi na delovanje kortikoida, u odnosu na medularne timocite. Zbog toga duža aplikacija kortikoida dovodi do opadanja broja kortikalnih timocita i slabljenja celularne imunosti. Rezultati eksperimentalnih studija pokazali su da su timusne ćelije, ovih životinjskih vrsta, vidljivo oštećene u in vitro kulturama, već posle nekoliko sati delovanja kortikoida, u koncentraciji nižoj od $2,7 \times 10^{-8}$ M (*Betel et al.*, 1970). S druge strane, steroidi takođe imaju snažno delovanje na periferne limfoidne organe, osobito slezinu i limfne čvorove, što je praćeno izrazitom limfocitopenijom (*Brenceni i Arnason*, 1966). Zbog toga kortikoid-senzitivne životinjske vrste nisu pogodne za izučavanje mehanizma delovanja prolongirane primene visokih doza kortikoida.

Steroid-rezistentne životinjske vrste daleko su manje osetljive na delovanje kortikosteroida. U eksperimentima na zamorcima pokazano je da aplikacija kortizon acetata, u dozi od 50 mg na kilogram telesne težine, izaziva redukciju težine timusa za 37%, od njegove početne vrednosti, i neznatne promene u broju limfočita u perifernoj krvi (*Blau et al.*, 1968). Međutim, aplikacija iste doze ovog kortikoida kod miševa izaziva redukciju težine timusa za 90% i rapidno smanjivanje broja limfocita u perifernoj krvi (*Cohen et al.*, 1970).

Caffey i Silbey (1960) zapazili su slične efekte kortikoida i kod čoveka. Naime, dajući deci peroralno, svakoga dana, pronizon u dozi od 1,0 do 2,5 mg, na kilogram telesne težine, u toku sedam dana, zapazili su da dolazi do smanjivanja senke timusa za 19 do 44% od početne veličine. Posle prestanka aplikacije pronizona dolazilo je do normalizacije senke timusa (*Caffey i Silbey*, 1960). Intravenozna primena masivne doze kortikosteroida, od 1000 mg, dovodi do pada broja limfocita u perifernoj krvi za 74%, u toku prva četiri sata nakon aplikacije (*Coburg et al.*, 1970). Humane limfoidne ćelije relativno su rezistentne na delovanje steroida, u odnosu na ćelije steroid-senzitivnih životinja.

Mada je danas poznato da postoji fiziološka razlika između steroid-senzitivnih i steroid-rezistentnih životinjskih vrsta, tačan mehanizam ove razlike ni do danas nije dovoljno razjašnjen.

Novija istraživanja ove razlike između steroid-senzitivnih i steroid-rezistentnih životinjskih vrsta sugerišu moguću ulogu citokina, koji se oslobađaju iz makrofagnih i drugih ćelija imunog sistema, koje mogu posredovati u sintezi i oslobađanju kortikoida iz nadbubrežne žlezde (*Dunn, 1990*). Citokini mogu ostvariti to svoje svojstvo delovanjem preko inicijacije, pomoću hipotalamo-hipofiznog adrenalnog odgovora. Porast produkcije kortikoida, feed back mehanizmom, može limitirati produkciju citokina i suprimirati imuni odgovor.

Izneti literaturni podaci ukazuju na činjenicu da je neophodno, pri planiranju eksperimenata, odabrati životinje adekvatne osetljivosti na delovanje kortikoida.

Imajući u vidu ove literaturne podatke, mi smo u ovom radu koristili zamorce muškog pola, koji spadaju u steroid-rezistentne životinje. Oni su veoma pogodni za ova istraživanja, u kojima smo koristili visoke doze kortizola. Njihova fiziološka reakcija na aplikaciju kortikoida veoma je slična čovekovoj.

Naši rezultati pokazuju da nakon supkutane aplikacije kortizola dolazi do njegove brze apsorpcije i promptnog porasta nivoa serumskog kortizola. Najviše vrednosti serumskog kortizola verifikovane su 12 časova posle supkutane aplikacije kortizola, a potom njegova koncentracija u serumu postepeno opada do 24 časa nakon inokulacije. Međutim, i posle 24 časa, nivo serumskog kortizola viši je nego pre inokulacije ovog kortikoida. S druge strane, naši rezultati pokazuju da je nivo serumskog kortizola doza zavisian, jer s porastom doze aplikovanog kortizola raste i nivo serumskog kortizola.

Zaključak

Supkutana aplikacija kortizola dovodi do promptne resorpcije i progresivnog porasta nivoa serumskog kortizola. Najviši nivo serumskog kortizola je 12 časova nakon supkutane aplikacije kortizola. Nivo serumskog kortizola postepeno opada do 24 časa nakon aplikacije, kada dostiže najniže vredosti.

Literatura

- Betel, L., Appelman, A. W. M. and Graver, M. A. (1970).* On the role phosphate and phosphoprotein in thymocyinterphase death. *Exp. Celi Res.*, 589, 97-104.
- Blau, J. N., Jones, R. N. and Kennedy, L. A. (1968).* Hassall's corpuscles: a measure of activity in the thymus during involution and reconstitution. *Immunology*, 75,561-570.

Branceni, D. and Arnason, B. G. (1966). Thymic involution and recovery immune responsiveness and immunoglobulins after neonatal prednisolone in rats. Immunology, 10, 35-44.

Caffej, J. and Silbej, R. (1960). Regrowth and overgrowth of the thymus after atrophy induced by the oral administration of adrenocorticosteroids to human infants: Benjamin Knox Rachford Lecture. Pediatrics, 26, 762-770.

Claesson, M. H. and Repke, C. (1969). Quantitative studies on cortisol-induced decay of lymphoid cells in the thymolymphatic system. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 76, 376-384.

Coburga, A. J., Gray, S. H., Katz, F. H. et al. (1970). Disappearance rates and immunosuppression of intermittent intravenously administered prednisolone in rabbits and human beings, Surg. Gynecol. Obstet., 737, 933-942.

Covvan, W. K. and Sorenson, G. D. (1964). Electron microscopic observations of acute thymic involution produced by hydrocortisone. Lab. Invest., 73, 353-370.

Cohen, J. H., Fischbach, M. and Claman, H. N. (1970). Hydrocortisone resistance of graft vs host activity in mouse thymus, spleen and bone marrow. J. Immunol., 705, 1146-1150.

Dunn, A. J. (1990). Interleukin-1 as a stimulator of hormone secretion, Prog. Neuroendocrinol., 26, 26-34.

Shewell, J. and Long, D. A. (1956). A species difference with regard to the effect of cortisone acetate on body weight, gamma-globulin and circulating antitoxin levels. J. Hyg., 54, 452-460.

EFFET DU CORTISOLE EXOGENE SUR LE NIVEAU DU CORTISOLE DE SERUM

Zoran PAVLOVIĆ et Voja PAVLOVIĆ

Clinique pour la hematologie et l'immunologie du Centre clinique de Niš

On étudie l'activité de hautes doses du cortisol sur le niveau du cortisol de serum. L'expérience est faite sur les cobayes du sexe masculin qui mesuraient de 300 à 400 grammes. On applique le cortisol sur le poids corporel: A groupe - 5, B groupe - 20, C groupe - 40 et D groupe - 80. Les cobayes du groupe de contrôle acceptent un ml de la solution physiologique. Après l'application de six jours par la ponction cardiaque on a pris les échantillons du sang. L'application du cortisol exogène amène l'accroissement du niveau dans tous les groupes traités par cortisol. La plus grande concentration du cortisol est vérifiée douze heures après l'application exogène du cortisol. Avec l'accroissement de la dose du cortisol appliqué croît aussi le niveau du cortisol de serum.

Les mots clés: Cortisol exogène, cortisol de serum, expérience sur les cobayes

EFFECT OF EXOGENOUS CORTISOL UPON THE SERUM CORTISOL LEVEL

Zoran PAVLOVIĆ and Voja PAVLOVIĆ

Clinic for Hematology and Clinic Immunology of the Clinic Center, Niš

The effect of high doses of cortisol upon the serum cortisol level is studied. The experiment is done upon male guinea-pigs of bodily weight of 300 to 400 g. Cortisol is applied in the subcutaneous way to a kilogram of bodily weight, namely, A group - 5, B group - 20, C group - 40 and D group - 80. The control group guinea-pigs received one ml of the physiological solution. After the six days application the blood samples were taken by the cordial puncture. The exogenous cortisol application leads to an increase of its level in all the cortisol treated groups. The greatest cortisol concentration is verified twelve hours after the exogenous cortisol application. With an increasing dose of the applied cortisol the serum cortisol level also rises.

Key words: Exogenous cortisol, serum cortisol, experiment with guinea-pigs

Autor: Mr sci Zoran Pavlović, lekar. Klinika za hematologiju i kliničku imunologiju Kliničkog centra u Nišu; kućna adresa: Niš, Georgi Dimitrova 67.

(Rad je Uredništvo primilo 18. aprila 2001. godine)