

ПОРУШЕННЯ ЕФЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ К-КЛІТИН КРОВІ В УМОВАХ ХІРУРГІЧНОГО СТРЕСУ ТА ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ

В.Й.Кресюн, Я.В.Рожковський, Ю.І.Бажора, О.Г.Попов

Одеський державний медичний університет

Ключові слова: хірургічний стрес; імунологічна резистентність; пірацетам; літоніт

Метою роботи було вивчення можливостей профілактичного впливу пірацетаму та літоніту на активність К-клітин в умовах хірургічного стресу та визначення можливих механізмів їх імунокорегуючого впливу. Встановлено, що пригнічення цитолітичної активності К-клітин в умовах операційного стресу зокрема пов'язане зі зниженням вмісту ІЛ-1 у плазмі крові та порушенням РБТЛ у відповідь на комітогенний вплив цього імуномедіатора. Профілактичне використання протягом 5 діб до операції пірацетаму і літоніту значною мірою запобігає змінам ефекторної активності кілерів та скорочує терміни імунореабілітації шляхом модулюючого впливу препаратів на вміст ІЛ-1 у плазмі крові та збереження чутливості лімфоцитів в умовах стресу до комітогенного впливу ІЛ-1 в РБТЛ. Виявлена ефективність коригуючого впливу літоніту на активність К-клітин не пов'язана з його впливом на рівень ІЛ-1 у плазмі крові, що свідчить про наявність у препараті інших механізмів імуномодуляції.

Порушення імунологічної резистентності організму на фоні перенесеного хірургічного стресу є беззаперечним фактом. Тому післяопераційний період розцінюється як стан підвищеного імунологічного ризику, тривалість та напруженість якого залежать від розмірів хірургічної травми, тривалості хірургічного втручання, характеру анестезії, особливостей імунологічного стану організму на момент травми тощо [3, 4]. За даними багатьох досліджень інфекційні ускладнення після операції значною мірою можуть бути пов'язані зі стресовою дисфункцією кілерних клітин крові (К-клітини) та порушенням їх антитілозалежної цитопатогенної активності [4, 7, 8]. Беручи до уваги противірусну активність цих клітин та їх здатність забезпечувати функцію імунологічного нагляду, можна зробити висновок про необхідність фармакологічної корекції саме цієї ланки імунітету. В цьому плані особливий інтерес зосереджується на засобах метаболічної тера-

пії мембраноактивного типу дії, зокрема на ноотропах, похідних ГАМК, ніотинової, янтарної кислоти та інших природних метаболітах організму [1, 2, 7, 9, 10]. Імуномодулюючі властивості згаданих сполук у відношенні ефекторної активності К-клітин та перспективи їх використання з метою післястресової імунореабілітації на фоні перенесеного хірургічного стресу майже не досліджувались. Отже, метою нашої роботи стало вивчення можливостей профілактичного впливу ноотропного засобу пірацетаму та атипового транквілізатора метаболітного типу дії літоніту на активність К-клітин в умовах хірургічного стресу та визначення можливих механізмів їх імунокорегуючого впливу.

Матеріали та методи

В групу клінічного обстеження ввійшли 36 соматично здорових пацієнтів хірургічного відділення віком 20-45 років, планово прооперованих з приводу пахової грижі. Операції виконували під місцевою анестезією. Забір крові

проводили в день операції до здійснення премедикаційних заходів, а також через 1, 3 та 7 діб після операції. Першу, контрольну групу, становили хворі зі стандартним обсягом хірургічного втручання без попередньої та післяопераційної імунокорекції; 2 та 3 групи — хворі, які протягом 5 діб до операції профілактично отримували пірацетам (2,4 г на добу) та літоніт (10 мг/кг) відповідно. Оскільки цитотоксична функція К-клітин є антитілозалежною [11], для її оцінки в якості клітин-мішеней використовували еритроцити барана, оброблені антисироваткою різного розведення. Завись моноклеарних клітин, виділених з периферійної крові, змішували в розчині Хенкса з клітинами-мішенями у співвідношенні 5:1; інкубували протягом 3,5 год. при температурі 37°C, центрифугували при 400 g протягом 15 хв. і в надосадовій рідині спектрофотометричним методом при $\lambda=414$ nm вивчали оптичну густину отриманих супернатантів. Процент гемолізу вираховували за формулою

$$(E_e - E_k) / E_{\max} \cdot 100\%$$

де: E_e — оптична густина експерименту; E_k — оптична густина контролю (суміш ефекторних

Таблиця 1

Цитопатогенна активність К-клітин крові (в % гемолізу) в умовах хірургічного стресу та його фармакологічної корекції

Група	До операції	Післяопераційний період		
		1 доба	3 доби	7 дб
Контроль	55,1±6,8	20,2±3,9	29,3±4,1	50,4±7,1
Пірацетам	77,4±7,1*	49,9±5,8*	48,1±6,0*	58,3±7,2
Літоніт	56,8±6,1	38,4±4,3*	52,2±5,1*	53,0±4,5

*Зміни достовірні у порівнянні з контрольною групою

Таблиця 2

Вміст інтерлейкіну-1 (ІЛ-1) у плазмі крові (пг/мл) в умовах хірургічного стресу та його фармакологічної корекції

Група	До операції	Післяопераційний період		
		1 доба	3 доби	7 дб
Контроль	75,1±12,3	40,4±4,8	48,9±6,7	56,7±10,2
Пірацетам	106,9±13,8*	79,5±10,3*	70,2±8,4*	85,4±10,3*
Літоніт	63,5±12,8	42,4±5,6	50,1±7,4	60,5±13,6

*Зміни достовірні в порівнянні з контрольною групою

клітин з еритроцитами барана, не обробленими антисироваткою); E_{max} — оптична густина за умов максимального гемолізу відповідної кількості еритроцитів.

Пряме визначення концентрації інтерлейкіну-1 (ІЛ-1) у плазмі крові здійснювали стандартним радіоімунним методом з використанням Interleukin-1 α [125 J] RIA kit (Amersham, UK). Для здійснення реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) периферійної крові клітини культивували *in vitro* з Con A (0,75 мкг/мл) та нативним препаратом ІЛ-1 кролика в дозі 0,06 мкг/мл. Включення міченого H^3 -тимідину оцінювали за допомогою сцинтиляційного β -лічильника (LKB). Реакцію визначали кількісно за включенням мітки ДНК лімфоцитів протягом 1 хв.

Результати та їх обговорення

Хірургічний стрес суттєво змінював активність клітин, які забезпечують антитілозалежну цитотоксичність. Вже з першої доби після операції цитолітична активність К-клітин крові знижувалась майже на 73% і складала 20,2±3,9% гемолізу порівняно з 55,1±6,8% до операції (табл. 1). Функціона-

льна активність ефекторів трималась на зниженому рівні протягом 4-5 дб і лише наприкінці тижня післяопераційного періоду поступово відновлювалась. Найімовірнішою причиною порушення функціональної активності К-клітин крові є їх стресовий перерозподіл в організмі. Не виключені й механізми пригнічення функції К-клітин за рахунок стресової активації супресорів, або ж порушення лімфокінної регуляції, зокрема дефіциту інтерферонів та індукторів їх синтезу [6].

Увага науковців зосереджена на вивченні впливу деяких цитокінів-імуномедіаторів, які безпосередньо регулюють ефекторну активність К-клітин [11, 12]. В нашій роботі досліджувався рівень ІЛ-1 у плазмі крові та реакція бласттрансформації лімфоцитів у відповідь на вплив ІЛ-1, що надавало можливість не тільки кількісної оцінки медіатора імунної відповіді, але й відповідної реакції з боку клітин-мішеней щодо його модулюючого впливу. Дослідження показали, що зниження ефекторної активності К-клітин в умовах хірургічного стресу супроводжується одночасним падінням вмісту ІЛ-1 у плазмі

крові. Через добу після операції рівень ІЛ-1 у плазмі дорівнював 40,4±4,8 пг/мл у порівнянні з 75,1±12,3 пг/мл до операції (табл. 2). При цьому лімфоцити периферійної крові майже повністю втрачали здатність відповідати реакцією бласттрансформації на вплив ІЛ-1 *in vitro* (рис.). Протягом тижня післяопераційного періоду вміст ІЛ-1 у плазмі крові поступово відновлювався, але чутливість лімфоцитів на його комітогенний вплив так і залишалась суттєво зниженою. Включення H^3 -тимідину в ДНК лімфоцитів периферійної крові на 7-му добу після операції становило 3057±412 імп./хв. у порівнянні з 4612±382 імп./хв. до оперативного втручання (рис.).

Операційний стрес супроводжується значним і тривалим падінням активності К-клітин крові, пов'язаним зокрема зі зниженням вмісту ІЛ-1 у плазмі крові та порушенням здатності лімфоцитів відповідати на його комітогенний вплив у РБТЛ.

Профілактика хірургічного стресу пірацетамом та літонітом значно пом'якшувала зазначену імносупресію і сприяла скороченню термінів імунореабілітації. Але механізми імномодулюючого впливу препаратів мали деякі особливості. На відміну від літоніту попереднє курсове введення пірацетаму до операції достовірно підвищувало цитолітичну активність К-клітин крові майже на 41% ($P<0,05$). При цьому вміст ІЛ-1 у плазмі крові хворих, які отримували пірацетам до операції, достовірно зростав з 75,1±12,3 пг/мл до 106,9±13,8 пг/мл ($P<0,05$), а його комітогенний вплив в РБТЛ підвищувався майже в 1,37 рази (рис.). Це безперечно свідчить про наявність у пірацетаму імностимулюючої активності. У післяопераційному періоді пірацетам повністю запобігав депресії активності К-клітин і сприяв утриманню на рівні контролю вмісту ІЛ-1 у плазмі крові. Лімфоцити периферійної крові хворих, які отримували цей препарат до операції, повністю зберігали здатність відповідати реакцією бласттранс-

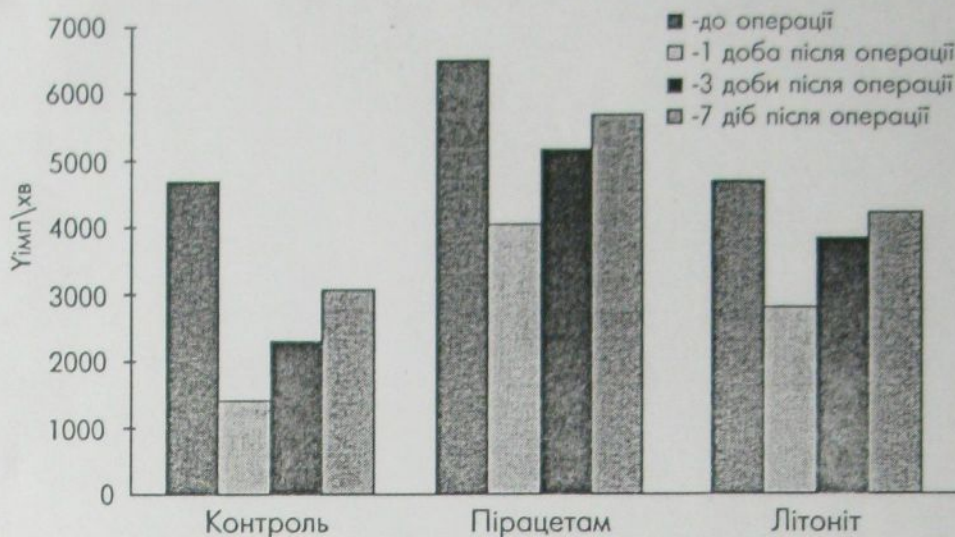


Рис. Вплив пірацетаму і літоніту на індукцію інтерлейкіном-1 включення H^3 -тимідину в ДНК лімфоцитів периферійної крові в умовах хірургічного стресу (імпульсів за хвилину)

формації на вплив ІЛ-1 в присутності субоптимальної дози $Con A$ в умовах *in vitro* (рис.).

Здатність пірацетаму до активації синтезу ядерної РНК та білка [5] є проявом не тільки його церебральної, але й екстрацеребральної активності, яка реалізується зокрема на рівні імунокомпетентних клітин підсиленням включення H^3 -тимідину в ДНК лімфоцитів та активацією тим самим їх проліферації в РБТЛ.

Курсове попереднє введення літоніту до операції не впливало

на зазначені показники імунологічної резистентності. Разом з тим літоніт суттєво зменшував глибину післястресової депресії К-клітин та скорочував термін реабілітації їх цитолітичної активності майже вдвічі (табл. 1). При цьому, незважаючи на протективний вплив на комітогенну активність у РБТЛ, літоніт у післяопераційному періоді не запобігав стресовим змінам рівня ІЛ-1 у плазмі крові, поступаючи за цими показниками пірацетаму (табл. 2). Можливо, у літоніту є інші, не

пов'язані з ІЛ-1 механізми імуномодулюючого впливу на ефективну активність К-клітин [7, 9, 10].

ВИСНОВКИ

1. Операційний стрес супроводжується значним і тривалим порушенням ефекторної активності К-клітин крові, яка протягом тижня поступово відновлюється.

2. Пригнічення цитолітичної активності К-клітин зокрема пов'язане зі зниженням вмісту ІЛ-1 у плазмі крові та порушенням РБТЛ у відповідь на комітогенний вплив цього імуномедіатора.

3. Профілактичне використання протягом 5 днів до операції пірацетаму і літоніту значною мірою запобігає змінам ефекторної активності кілерів та скорочує терміни імунореабілітації шляхом модулюючого впливу препаратів на вміст ІЛ-1 у плазмі крові та збереження чутливості лімфоцитів в умовах стресу до комітогенного впливу ІЛ-1 в РБТЛ.

4. Виявлена ефективність корегуючого впливу літоніту на активність К-клітин не пов'язана з його впливом на рівень ІЛ-1 у плазмі крові, що свідчить про наявність у препараті інших механізмів імуномодуляції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арцимович Н.Г. Фармакологическая коррекция функций иммунной системы. В кн.: Иммунофизиология — С.-П.: Наука, 1993. — С. 558-578.
2. Арцимович Н.Г., Фадеева Т.А., Галушина Т.С. //Inter. J. on Immunorehabilit. — 1997. — №6. — С. 70-73.
3. Беловолова Р.А. Посттравматические нарушения механизмов неспецифической резистентности, клеточных и гуморальных факторов иммунитета и их коррекция: Автореф. ... дисс. д-ра мед. наук. — Москва, 1992. — 36 с.
4. Ефимова Н.В., Сорокина М.И. //Хирургия. — 1986. — №6. — С.124-127.
5. Кленникова В.А., Глуценко Т.С., Тенчева С. //Нейрохимия. — 1987. — №2. — С. 254-258.
6. Коляда Т.І., Волянський Ю.Л., Васильєв М.В., Мальцев В.І. Адаптаційний синдром та імунітет. — Харків: Основа, 1995. — 368 с.
7. Кресюн В.Й., Дмитрієв Б.І., Тбілелі С.М. //Одеський мед. журн. — 1998. — №2. — С.43-45.
8. Новиков В.С., Смирнов В.С. Иммунофизиология экстремальных состояний. — С.-П.: Наука, 1995. — 172 с.
9. Рожковський Я.В., Кресюн В.Й., Бажора Ю.І та ін. //Ліки. — 1996. — №3. — С.73-80.
10. Тбілелі С.М. //Одеський мед. журн. — 1998. — №1. — С.37-39.
11. Яковлев Г.М., Новиков В.С., Хавинсон В.Х. Резистентность, стресс, регуляция. — Л.: Наука, 1990. — 238 с.
12. Orlov D.S., Shatova O.V., Lesnikova M.P. et al. //Cytokine. — 1994. — Vol. 6, №5. — P. 135.