УДК 612.017.1 + 612.43/47:617.01

НЕЙРОЕНДОКРИННІ ПАРАЛЕЛІ У ХІРУРГІЧНИХ ХВОРИХ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ АНЕСТЕЗІОЛОГІЧНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ХІРУРГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

Федотов Є.Р., Грицаєнко Ю.М.

У підтриманні антигенструктурного гомеостазу /АСГ/ імунна система щільно пов'язана з нервовою та ендокринною системами спільністю рецепторного апарату, синтезом гормонів та гормоноїдів. Значення даної взаємодії зростає при оперативному лікуванні на фоні загальної анестезії. Останні супроводжуються пошкодженням тканин, стресом, що у сукупності порушує АСГ, регуляторні взаємодії цих трьох гомеостатичних систем, посиленням на них функціонального навантаження, що може привести до їх недостатності. Розвиток пост-операційного вторинного імунодефіциту відмічають усі дослідники /1,2,3/, при цьому домінуючим фактором є операційний стрес, який визначається об'ємом операційної травми, тоді як внесок в імуносупресію анестетиків значно менший і залежить від його виду, продовжуваності та конституціональної до нього сприйнятливості.Все ж при негативній сукупності вказаних факторів роль анестетиків у розвитку зрушень імунітету може підвіщуватися.

Функціональний склад імунної системи пост-операційного періоду визначає протікання та ефективність, швидкість заживлення хірургічних ран, можливість інфекційних та неінфекційних ускладнень. Тому основна мета наших досліджень полягає у вивченні динаміки в період хірургічного лікування імунологічних показників у зв'язку із змінами деяких гормонів /кортизола,щитовидної залози/, котрі мають суттєве значения у регуляції імуногенезу /4/. Крім загальноклінічних методів ми застосували розроблені у нашій лабораторії функціональні імунологічні методи /5,6,7/. Такого методологічного підходу до вивчення впливу анестезіологічного та хірургічного стресу на імунітет ми в доступній літературі не зустріли.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

Матеріалом служила венозна кров 34 хірургічніх хворих, оперованих з приводу пухлин ц.н.с. /26 чол./ в запальних захворювань жіночих статевих органів /8 чол./. Використовувались такі види анестезії: атаралгезія /АА/, нейролептаналгезія /НЛА/, внутрішньовенний програмований полінаркоз /ВППН/, дипривaн /пропофол + фентаніл/, електровплив + пропофол. Забор крові здійснювали до операції /1/, через 30-40 хв. після премедикації /2/, через 30-40 хв. після індукції та інтубації /3/, на початку операції /травматичний етап операції-4/, у кінці операції /5/, після доби оперативного лікування /6/, тиждень по тому оперативного лікування /7/. У крові визначали кількість лейкоцитів та формулу крові , а також загальноклінічні й імунологічні показники: Е=РОК, титр гетерофільних антитіл /8/. У сироватці крові визначали зміст кортизолу та гормонів щитовидної залози / Т-3, Т-4/ радіоімунним методом. Хоч обстежені групи хворих відрізнялись характером захворювань, видом анестезії, об'ємом оперативного втручання, вказані відмінності мало відбивались на сумарних показниках зі строків обстеження, так як кожен хворий обстежений у динаміці хірургічного лікування, тобто час кожного етапу обстеження, а також анестезіологічні та хірургічні впливи діяння співпадали. Тому у всіх хворих виявлялась схожа спрямованість змінення аналізованих показників при індивідуальних амплітудних варіаціях. З нових імунологічних методів застосовували цитоморфометричний, авідний розетковий та люмінісцентний з використанням акридинового оранжевого /АО/. Ці методи засновані на виявленні остаточних ознак активації циркулюючих лімфоцитів під час попереднього імуногенезу в лімфоцидних органах та в сукупності з загальноклінічними методами складають патогенетичний підхід до аналізу стану імунної системи, так як характеризує основні етапи імуногенезу: активацію, проліферацію,диференціювання та міграцію лімфоцитів.

Цитогенетичний метод заснований на визначенні частоти класів лімфоцитів /КЛ/ без асоціацій акроцентричних хромосом /ААХ/ і з двома асоціюючими акроцентриками /КЛ О-2 ААХ/.Хромосоми аналізували у 100 метафазних пластинках на препаратах хромосом, отриманих із культури лімфоцитів крові, стимульованих фітогемаглютиніном /Дифко/ у дозі 20 мкг/мл. До КЛ О-2 ААХ відносяться ранні постпроліферативні активовані Т-лімфоцити.

Цитоморфометричний метод дозволяє визначити долю класів малих лімфоцитів з діаметром до 6,0 мкм /КЛ ≤ 6,0 мкм/, що є ранніми постпроліферативними активованими Т- і В-лімфоцитами та О-клітинами.

Вони також характеризуються високим ступенем зрілості та високою міграційною активністю. Виміряли діаметр 200 лімфоцитів у стандартних мазках крові за допомогою окуляр – мікрометра.

Авідний розетковий метод передбачає облік кількості спонтанно прикріплених еритроцитів барана до Т-лимфоцитів. Дана ознака залежить від щільності на мембрані відповідних структур і, за нашими даними, лімфоцити, що прикріпили більше 8 еритроцитів барана /КЛ ≥ 8 ЕБ/, відносяться до активованих. Активність визначали у 200 Т-лімфоцитах на препаратах, отриманих стандартним способом.

Люмінісцентний метод аналізу лімфоцитів, флуорохромованих АО оцінює активність білок-синтетичної системи на всіх етапах імуногенезу. Його димери у фіксованих лімфоцітах зв'язуються з однонитковими структурами /в основному РНК та синтетично активні ділянки ДНК/ та флуоресціюють у максимумі 640 нм. Інтенсивність люмінесценції /1/ визначали у 100 лімфоцитах на мікроспектрофлуориметрі-2 і визначали А-параметр: I 640/I 530 нм.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Наведені у таблиці дані свідчать про тісний взаємозв'язок динаміки гормональних та імунологічних показників і є свідченням участі імунної системи у загальному адаптаційному синдромі. Так, на 2-му етапі обстеження кількість кортизолу різко зросла до максимальних на всіх етапах значення. Підготовка до операції та премедикації є стресом для хворого, супроводжується викидом глюкокортикоїдів. 0станні негативно регулюють проліферативні та міграційні реакції лейкоцитів. У зворотному зв'язку з рівнем глюкокортикоїдів знаходяться і гормони щитовидної залози, що стимулюють процеси диференціювання клітин, у тому числі і лейкоцитів, у результаті чого рівень Т-3 та Т-4 у цей період обстеження знизився.

Відповідно до гормональних зрушень відбулися зміни частини імунологічних показників: знизилась кількість лейкоцитів, в основному, за рахунок нейтрофілів, зменшилась білок-синтетична активність лімфоцитів,судячи з I 640 нм, у того ж часу абсолютна кількість лімфоцитів, Т-лімфоцитів та їх активних фракцій / КЛ≥8 ЕБ,КЛ ≤ 6,0/ мала тенденцію до збільшення. Причина даної тенденції, мабуть, пов'язана з гальмуванням міграції активованих лімфоцитів у регіонарні органи. Ефект премедикації, а також антиноцицетивної анестезії, очевидно, зняло стресовий вплив 2 і 3 періоду обстеження, включаючи і інтубацію і, як наслідок, більшість вивчених показників через 30-40 хв. Після інтубації нормалізувались і статистично не відрізнялась від передопераційного рівня.

Травматичний період /4 етап/ операції супроводжувався розвитком операційного стресу, антиноцицетивна інформація котрого в певній мірі блокувалась анестетиками. Тому рівень кортизолу як антистресового гормону підвищився на невелику /14,8%/ величину порівняно з вихідним рівнем. На 2 етапі обстеження у відсутності повної анестезії підвищення кортизолу дорівнювало 40%. 0пераційна травма супроводжувалась порушенням АСГ, потраплянням в рідке середовище аутоантигенів детриту, тканинних цитокінів, що в свою чергу активує морфогенетичні /репаративні/ реакції імунітету. 0днак впевнено зареєструвати їх початок вдалося за допомогою люмінесцентного методу, що показав достовірне підвищення I 640 нм, яке свідчить про підвищення активності білок-синтетичної, а отже й імунологічної активності циркулюючих лімфоцитів.

Таблиця - Імунологічні та ендокринологічні показники крові хворих на етапах хірургічного лікування.

(Показники	Етапи обслідування						
	1	2	3	4	5	6	7
1.Лейкоцити, 109/л	6.48 (0.4	5.65 (0.37	5.68 (0.38	6.31 ±04	10.17 ±0.61	12.01 ±0.8	11.01 ±0.73
2.Лімфоцити, 10^9/л	2.79 ±0.18	2.91 ±0.19	2.78 ±0.1	2.62 ±0.17	2.95 ±0.2	2.84 ±0.19	3.08 ±0.2
3.Е-РОК, %	61.0 ±4.1	63.5 ±4.2	62.1 ±4.1	63.9 ±4.3	65.7 ±4.4	56.9 ±3.2	51.2 ±3.15
10^9/л;	1.7 ±0.11	1.85 ±0.12	1.72 ±0.11	1.67 ±0.1	1.94 ±0.12	1.62 ±0.11	1.57 ±0.1
в тому числі КЛ≥8 ЕБ,%	17.8 ±1.2	22.4 ±1.3	20.5 ±1.3	22.5 ±1.5	21.2 ±1.4	16.3 ±1.08	19.2 ±1.03
4.Титри антитіл,	20	20	21	21	17	15	28

* абс; ln	±1.2 3.02 ±0.2	±1.1 2.97 ±018	±1.3 3.02 ±0.2	±1.2 3.02 ±0.199	±1.1 2.84 ±0.18	±0.85 2.7 ±0.17	±1.7 3.32 ±0.2
5.I 640 нм, у.о. I 530 нм, у.о. А-параметр	0.45 ±0.02 1.6 ±0.1 0.42 ±0.02	0.38 ±0.02 1.79 ±0.1 0.36 ±0.01	0.47 ±0.03 1.69 ±0.09 0.47 ±0.02	0.66 ±0.04 1.55 ±0.1 0.61 ±0.03	0.78 ±0.04 1.72 0.11 0.74 ±0.04	0.72 ±0.02 1.46 ±0.09 0.72 ±0.04	0.76 ±0.03 1.66 ±0.1 0.64 ±0.03
6.КЛ≤6,0 мкм, %	27.5 ±1.8	30.3 ±2	30.1 ±1.9	22.9 ±1.5	19.4 ±1.3	26.2 ±1.7	26.7 ±1.7
7.КЛ 0+2 ААХ, %	30.6 ±2.02	30.0 2.01	27.2 ±1.8	22.8 ±1.5	37.2 ±2.4	12.6 ±0.7	28.0 ±1.8
8.Споживання O_2, МЛ/$М^2$	144.7 ±9.6	165.8 ±11.1	160.3 ±10.1	126.9 ±8.5	151.2 ±10.1	145.2 ±9.6	149.7 ±9.8
9.Кортизол , нмоль/л	509.75 ±33.7	714.6 ±47.5	562.4 ±37.4	581.3 ±38.6	591.3 ±39.2	553.8 ±36.7	547.3 ±36.4
10.Т-3, нмоль/л	4,15 ±0.24	3.24 ±0.22	5.21 ±0.32	4.72 ±0.3	4.15 ±0.26	5.65 ±0.34	3.58 ±0.24
11.Т-4, нмоль/л	171.5 ±11.3	131.7 ±8.7	129.7 ±8.5	145.2 ±9.5	139.5 ±9.3	189.0 ±12.4	166.8 ±11.2

Примітка: * - Дані обернені величини титрів; ln-їх натуральний логарифм.

Вказане підвищення люмінісценції у цей період було відмічене у всіх хворих, інтенсивність люмінісценції у максимумі 530 нм у всі строки спостереження випадково коливалась у різних напрямках, але амплітуда їх не досягла рівня значущості, тому змінення й А-параметра в основному залежить від динаміки I 640 нм. Стабільність I 530 нм у циркулюючих лімфоцитах пояснюється особливістю імуногенезу. У загальну циркуляцію потрапляють лімфоцити у Go стадії, у которих синтетично активність ДНК знаходиться на мінімальному репаруючому рівні, тоді як продукт її активності під час імуногенезу зберігається у циркулюючих лімфоцитах у вигляді різних РНК /в основному р-РНК/, що флуоресціюють у максимумі 840 нм. Можна впевнено вважати, що I 640 нм серед інших люмінесцентних показників найбільш об'єктивно відображає попередню імунологічну активність циркулюючих лімфоцитів.

Із інших імунологічних показників можна відмітити намічені, але вже досягаючі достовірного рівня зниження КЛ≤6,0 мкм, порівняно з іншим періодом обстеження /22,99та 30,1% - 4 і 3 періоди/. Зменшення долі малих лімфоцитів у циркулюючому пулі крові може бути наслідком 3-х основних причин: 1/ супресії мітотичної активності лімфоцитів та наступного імуногенезу; 2/ виходу незрілих, не закінчивших диференціювання клітин з бластними ознаками великих лімфоцитів, що має місце при зрушенні формули крові вліво, подібне гістогенезу нейтрофілів. Дане явище спостерігається в період посилення навантаженняя на імунітет; 3/ перерозподу КЛ≤6,0 мкм у організмі, зокрема депонуванням їх у «шокових» органах, тобто в місцях, де виникає підвищена необхідність сенсибілізованих лімфоцитів. Порівняльний аналіз динаміки усіх показників дає можливість припускати, що в найбільштравматичний період операції відмічаються всі три вказані механізми зниження КЛ≤6,0 мкм з перевагою одного з них у різних хворих в силу їх конституції,діагнозу, об'єму операції, тактики анестезії. Зокрема, про зменшення темпу новоутворення лімфоцитів свідчать наші /9/ та дані інших авторів /10/ про зниження реакції бласної трансформації лімфоцитів у культурі на мітогени у період операції на тлі загальної анестезії.

У кінці операції, в період максимального стресу, пошкоджень тканин та порушення АСГ, більшість функціональних показників нейрогормональної та імунної системи змінилася порівняно з попередніми етапами обстеження. Так, у більшості хворих рівень кортизолу був найбільшим в операційний період як засіб стримання імуногенетичної перенапруги, що насичила рідинні середовища організму детритом та

біологічно активними медіаторами з імунної та нейрогуморальної систем. I 640 нм досягає максимальних значень, причому більшість аналізованих лімфоцитів мали високий рівень люмінісценції, що свідчить про поліклональну їх активацію, котра у випадку одночасного закінченого імуногенезу для всіх клонів привело б до великих енергетичних витрат до імунологічного паралічу. 0днак, такий стан рідко трапляється при операціях. Так,гомаостатичний лейкоцитоз /10.17 ± 0.61/ у цей період розвивається в основному за рахунок гранулоцитів, тоді як адекватного збільшнння лімфоцитів не спостерігається. Можна говорити лише про тенденцію до деякого збільшення Т-лімфоцитів у частини хворих /1.940 ± 0.12 та 1.67 ± O.I/ л на 5 та 4 етапах відповідно/. До завершення операції частота КЛ≤6,0 мкм була мінімальною відносно всіх 7 етапів обстеження, тоді як частота КЛ 0+2 ААХ - максимальною. Різна спрямованість змін останніх показників пояснюється з позиції депонування в операційній рані та регіонарних лимфовузлах з високою міграційною здібністю КЛ≤6,0 мкм, також зрушенням лімфоцитарної формули крові та викидом в рециркуляцію із лімфоїдних органів бластоподібних великих лімфоцитів, не закінчивших певну кількість мітозів, а значить і всі стадії диференціювання. 0днак, інтенсивність міграційної активності лімфоцитів у лімфоїдних органах зросла порівняно з попереднім 4-м етапом, про що свідчить максимальне етапне значения КЛ 0+2 ААХ.

Недостатнє диференціювання лейкоцитів у міелоїдній та лімфоїдній тканинах під час операції може також бути наслідком найбільш низьких значень у цей період тиреоїдних гормонів Т-3 і Т-4. 0днак біологічна доцільність прискореної мобілізації не закінчивших повне диференціювання лейкоцитів виправдана досягненням їх великої кількості безперервно поповнюючих пул імунокомпетентних клітин при великій витраті у ході ліквідації наслідків порушення АСГ у ході операції. Наступного дня після операції також були вагомі нейрогуморальні та імунологічні зрушення. 0днак, всупереч операційному періодові, ці зміни слід розглядати уже не з точки зору реакції на велику кількість звільнившихся аутоантигенів та регулюючих дії гормонів та гормоноїдів, а з позиції активації репаративної регенерації та контролю її з боку імунітету. У цей період кількість кортизолу у крові почала знижатися, тоді як диференціюючі тиреоїдні гормони Т-3 і Т-4 досягли максимальних значень. Перебудова відбулася і в імунній системі. На тлі продовжуючогося гранулоцитарного лейкоцитозу знижалась кількість Т-лімфоцитів, в основному за рахунок високоавідних класів /КЛ≥8ЕБ/. Частота активно мігруючих малих лімфоцитів /КЛ≤6.0 мкм/ збільшилась і досягла виходного рівня, тоді як частота постпроліферативних активованих лімфоцитів /КЛ 0+2 ААХ/ різко знизилась до мінімальних розмірів. Слід зазначити, що метаболічні процеси у самій лімфоїдній системі продовжували залишатись на високому, як і в період операції, рівні, I 640 = 0.72 у.о. при 0.74у.о. у кінці операції. Тому можна зробити висновок по можливі механізми перерозподілу частот класів активованих лімфоцитів у крові. На тлі зростаючого диференціювання лімфоїдних елементів, зменшення їх зрушень вліво, збільшилась доля КЛ≤6.0 мкм у крові; відбувалась інтенсифікація їх перерозподілу у пошкоджені тканини, виконуючи там свої морфогенетичні функції та стимулюючи репаративні процеси. Депонування в них активованих лімфоцитів супрводжувалось зниженням в крові долі КЛ≥8ЕБ і КЛ 0+2ААХ.

Через тиждень після операції у большості хворих участь лімфоцитів у репаративних процесах залишалась високою. Але вже знявся глюкокортикоїдний супресорний фон імуногенезу, кількість кортизолу в крові продовжує знижатись. Тому лейкоцитоз вже супроводжується адекватним лімфоцитозом, але за рахунок В-лімфоцитів та 0-клітин, так як абсолютна кількість Т-лімфоцитів продовжувала падати до мінімальних значень за рахунок дефіциту високоавідної долі /КЛ≥8ЕБ/. Даний факт відображає триваючу міграцію та депонування Т-клітин у потребуючій в їх присутності операційну рану. Але на активність імуногенезу вказують високі рівні I 64D нм, відновлення долі активованих КЛ 0+22 ААХ, КЛ≤ 6.0 мкм.

Адекватно до змін клітинного імунітету, обумовленого Т-лімфоцитами, відбувалися зрушення і в гуморальній його ланці, що контролюється В-лімфоцитами. Так, наростання супресії Т-клітинного імунітету приводило до пониження активності В-лімфоцитів, котрі ми реєстрували за зниженням титрів нормальних антитіл до еритроцитів барану у крові хворих під час операції, що зберегалося наступного дня після неї. Навпаки, зняття біологічно охоронного супресорного блоку з Т-лімфоцитів, приводило до різкого збільшення долі В-лімфоцитів у крові та їх активності у лімфоїдних органах, що супроводжувалось і збільшенням титрів антитіл до ЕБ у більшості хворих, що перевищували доопераційний рівень.

Таким чином, нами описана динаміка середніх значень нейро-гуморальних та імунологічних показників. 3гідно зі статистичними закономірностями при нормальному розподілі варіант середні значення співпадають з модою варіаційного ряду, тобто дана динаміка вивчених показників притаманна більшість обстежуваних хворих і відображає нормальну гомеостатичну реакцію нервової, ендокринної та імунної систем на анестезіологічний та хірургічний стреси, а також на репаративні процеси після операції.0днак в обстежуваній групі хворих мались суттєві відхилення від цієї гомеостатичної норми, як у бік зменшення, так і в бік збільшення, що дає підстави вважати про відставання розвитку адаптаційного синдрому на стрес або репаративні стимули, або на його прискорення. Остання властивість організму є позитивним явищем, тоді як перше - потребуючим додаткових лікувальних заходів у вигляді змінення та

імуномодулюючої терапії. Ці індивідуальні особливості загального адаптаційного синдрому під час хірургічного лікування мають бути у центрі уваги анестезіологів та хірургів, біологів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ефимова Н. В., Сорокина М.И. Иммунология в хирургии // Хирургия.-1986.-№6.-С.124-136.
2. Буров Н.Е., Маневич В.Л. и др. Влияние анестезии и операции на показатели клеточного игуморального иммунитета у хирургических больных//Анестезиология и реаниматология.- 1984.-№5.-С.57-60.
3. Ровина А. К. ,Кудреваты В.В. Влияние операции и наркоза на иммунный статус организма и течение послеоперационного периода //Анестезиология и реаниматология.-1986.-№5.-С.39-41.
4. Эндокринология / Розен В. Б. -М. :изд-во МГУ, 1994.-384с.
5. Иммуноцитогенетика /Фролов А. К., Арцимович Н. Г., Сохин А.Н. -М.:Медицина,1993.-240с.
6. Фролов А.К., Арцимович Н.Г. и др. Цитогенетические и цитоморфометрические параллели лимфоцитов человека // Генетика.-1993.-т.2, №12.- С.2065-2073.
7. Фролов А.К. Иммуноцитопоэтические признаки циркулирующих лимфоцитов человека при физиологических и патологических состояниях //Цитология и генетика.-1994.-т.28, №4-С.3-7.
8. Виноградова Ю.Е., Гриншпун Л.Д., Самойлова Р.С. Некоторые основные методы исследования функции лимфоцитов / Терапевтический архив.-1974.-т.XLVI, №8.-С.31-35.
9. Грицаенко Ю.М., Федотов Е.Р., Фролов А.К., Шифрин Г.А. Динамика активированных лимфоцитов крови при инкубационном и операционном стрессе./Материалы 2-го национального конгресса анестезиологов Украины, Харьков.-1996. - С.186.
10. Лисяный Н.И., Ромоданов С.А. и др. Влияние хирургического вмешательства на состояние системы иммунитета при опухолях головного мозга. // Клиническая хирургия.-1990.-№12.-С.4-5.