

Д.А. Нурмаков¹, А.Н. Баймаханов¹, А.Ж. Нурмаков¹, Т.К. Кожаметов²,
Т.Е. Конурбаев² Б.Ш. Жамеков²

¹Казахский Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова,

²Городская клиническая больница №4 г. Алматы

ОЦЕНКА НЕПОСРЕДСТВЕННОГО ЭФФЕКТА ГЕРОИНА И «БЕТАЛЕЙКИНА» НА ОТДЕЛЬНЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ОПИЙНОЙ НАРКОМАНИЕЙ

В опытах in vitro установлено, что героин ингибирует такие функциональные показатели нейтрофильных лейкоцитов доноров, как кислородзависимый метаболизм, экспрессия иммуноглобулиновых и комплементарных рецепторов. Этот эффект существенно уменьшается у наркоманов, особенно со стажем более одного года. «Беталейкин» в большинстве случаев нивелирует отрицательный эффект героина на данные функциональные параметры микрофагоцитов.

Ключевые слова: героин, беталейкин, нейтрофильные лейкоциты

Ведение: В подавляющем большинстве клинико-иммунологических исследований, выполненных на больных опишной инъекционной наркоманией, детально изучались прямые и опосредованные эффекты героина на состояние различных субпопуляций лимфоцитов периферической крови [1-5]. Однако при данной патологии существенные изменения также происходят в функциональном состоянии клеточных факторов неспецифической резистентности организма, в частности, нейтрофильных гранулоцитах, выполняющих основную патогенетическую роль при развитии гнойно-воспалительных процессов на условно-патогенную микрофлору и обеспечивающих уничтожение и элиминацию возбудителей [6-9].

Как известно, одним из наиболее частых заболеваний у инъекционных наркоманов являются гнойно-хирургические процессы мягких тканей, имеющие атипичные клинико-морфологические проявления, т.к. развиваются на фоне существенных изменений в состоянии иммунной системы, обусловленных как физической зависимостью, так и выраженной интоксикацией [10-12].

Несмотря на очевидность необходимости детальной оценки состояния фагоцитарной системы при инъекционной наркомании, в доступной литературе мы не встретили специальных исследований по изучению прямого действия героина на отдельные функциональные параметры нейтрофильных лейкоцитов у данной категории больных. Вместе с тем, этот вопрос имеет исключительно важное значение, как в плане раннего прогнозирования развития гнойно-хирургических заболеваний мягких тканей у наркоманов, так и при определении оптимального метода иммунокоррекции. Все вышесказанное явилось целью настоящего исследования.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись нейтрофильные лейкоциты, выделенные из гепаринизированной венозной крови инъекционных опишных наркоманов и доноров общепринятым методом седиментации в градиенте плотности филоколл-верографина с удельной плотностью 1,12 г/см³. Рабочая взвесь нейтрофилов разводилась средой № 199 до концентрации 2×10^6 кл/мл. Функциональная активность фагоцитов оценивалась в традиционных вариантах спонтанного и стимулированного (пирогеналом) теста восстановления нитросинего тетразолия – НСТ-тест, а также в реакциях розеткообразования по индикации рецепторов к Fc-фрагменту IgG - Fcγ и C3b – компоненту комплемента – C3bR - EA-РОН и EAC-РОН. Тест системами в розеточных тестах являлись эритроциты быка, поверхность которых была конъюгирована агрегированным человеческим IgG и эритроциты быка, нагруженные специфическими антителами в субагглютинирующей дозировке и комплементом. Опытные пробы взвеси нейтрофильных лейкоцитов в НСТ-тесте ставились в присутствии героина (20 нг/мл) или «Беталейкина» – рекомбинантный ИЛ-1β человека (2000 пг/мл), или обоих вместе, контрольные пробы инкубировали аналогичным образом, но без данных препаратов. В розеточных тестах до их постановки опытные пробы инкубировали в течение 45 мин при 37°C с вышеуказанными препаратами.

Подавляющее большинство обследованных инъекционно регулярно принимали опиый сырец, разводимый ех темпоре в уксусном ангидриде. Пациенты были разделены на две группы: со стажем наркомании до и свыше года, т.к. наибольшие функциональные изменения происходят у инъекционных наркоманов со значительным стажем.

Результаты и их обсуждение.

Из приведенных в таблице данных видно, что у большинства больных со стажем наркомании менее одного года отмечалась активизация функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов, однако при этом по средним значениям индексов стимуляции (ИСтим.) в 3,7 раза снижался функциональный резерв бактерицидных систем микрофагоцитов. При большем стаже инъекционного постоянного приема опиый сырца уменьшались показатели как спонтанного, так и стимулированного бактериальным липополисахаридом (пирогеналом) НСТ-теста, что свидетельствовало о дальнейшем угнетении функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов. Средние индексы стимуляции в обеих группах больных с малым и большим стажем были соответственно в 3,7 и 3,4 раза ниже контрольной величины.

В присутствии наркотика у условно здоровых существенно снижались показатели НСТ-теста (на 32,8%), тогда как относительно нейтрофилов наркоманов с малым сроком ингибирующий эффект был меньшим – 18,4%, причем он регистрировался на фоне незначительной активизации кислородзависимого метаболизма клеток ($12,5 \pm 0,9\%$), обусловленного постоянными инфекционными процессами в местах инъекций суррогатными наркотиками. Однако, у стажированных наркоманов героин, наоборот, повышал на 41,0% значения спонтанного НСТ-теста, но уже в условиях низких значений спонтанного теста.

Аналогичная направленность эффекта героина имела и в отношении стимулированных пирогеналом реакций. При этом ингибирующий эффект был более выраженным (на 46,5% и 47,3% соответственно на нейтрофилах доноров и

больных на начальном периоде наркозависимости). Фагоциты наркоманов со стажем более года, также как и в спонтанном варианте реакции, несколько усиливали свой ответ на пирогенал в присутствии героина (ИС= 9,8%). «Беталейкин» in vitro также оказывал неоднозначный эффект на функционально-метаболическую активность микрофагоцитов периферической крови в исследуемых группах. В частности, он резко стимулировал кислородзависимый метаболизм нейтрофильных клеток доноров (на 169,6%), тогда как на микрофагоцитах наркоманов был значительно меньшим, особенно при стаже более года: ИС= 15,7%, у начинающих потребителей инъекционных наркотиков – 32,8%.

Таблица 1 – Особенности действия героина на функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов при инъекционной опиоидной наркомании

Варианты реакций	Функциональные показатели				
	НСТс(%)	НСТст.(%)	ИСтим.	ЕА-РОН (%)	ЕАС-РОН (%)
Здоровые – доноры (n= 17)					
Контроль	4,6±0,21	45,2±1,9	8,7±0,4	71,4±3,3	21,8±1,5
Героин	3,1±0,25	24,2±1,2	4,2±0,1	52,6±3,1	15,2±0,8
ИС (%)	- 32,8	- 46,5	-51,7	- 26,3	- 30,3
Беталейкин	15,5±0,9	51,2±3,1	3,1±0,1	73,9±4,2	33,7±2,8
ИС (%)	+269,6	+ 13,3	- 65,4	+ 3,5	+ 54,6
Героин+ Беталейкин	11,6±0,8	47,5±2,2	3,7±0,1	64,7±2,5	18,6±0,8
ИС (%)	+ 152,1	+ 5,1	- 57,5	- 9,4	- 14,7
Больные со стажем до одного года (n= 12)					
Контроль	12,5±0,9*	29,8±1,4*	2,35±0,12*	78,5±4,1	25,8±1,3*
Героин	10,2±0,5*	15,7±0,8*	2,49±0,09*	65,3±3,2	21,4±1,8*
ИС (%)	-18,4	-47,3	+ 6,0	-16,8	- 17,1
Беталейкин	16,6±1,8	28,7±1,1*	1,74±0,7*	71,9±3,1	28,6±1,2*
ИС (%)	+ 32,8	- 3,7	- 26,0	- 8,4	+ 10,8
Героин+ Беталейкин	19,7±0,9	23,6±1,2*	1,88±0,7*	69,5±3,3	26,1±1,1*
ИС (%)	+ 1,6	- 20,8	- 20,0	- 11,5	+ 1,2
Больные со стажем больше года (n= 15)					
Контроль	8,3±0,5*	21,4±1,6*	2,53±0,13*	61,2±3,8	16,5±1,2
Героин	11,7±0,4*	23,5±1,9	1,97±0,6*	63,4±2,5	17,4±1,1
ИС (%)	+ 41,0	+ 9,8	- 22,1	+ 3,6	+ 5,4
Беталейкин	9,6±0,5*	18,7±0,8*	1,91±0,4*	68,5±3,1	20,6±1,5*
ИС (%)	+ 15,7	- 12,8	- 24,5	+ 11,9	+ 24,8
Героин+ Беталейкин	14,6±0,8	26,2±1,6*	1,81±0,6*	68,3±4,5	21,7±1,2
ИС (%)	+ 75,9	+ 22,4	- 29,5	+ 11,6	+ 31,5

Примечание: НСТс. – спонтанный вариант, НСТст. – стимулированный вариант НСТ-теста, ИСтим. – индекс стимуляции, отношение показателя стимулированного варианта теста к спонтанному; ИС – индекс сдвига, изменение от исходного в %, со знаком (-) - уменьшение, со знаком (+) – повышение; * - различие с контрольной группой (доноров) статистически достоверно (p<0,05).

В опытах по сочетанному воздействию на нейтрофильные лейкоциты героина и «Беталейкина» была установлена возможность существенно нивелировать ингибирующий эффект наркотика на функционально-метаболическую активность клеток. Так, например, на донорских фагоцитах «Беталейкин» полностью снимал вызываемое героином снижение показателей спонтанного теста, однако его усиливающий эффект в этом случае уменьшался в 3,2 раза (ИС равнялись 52,1% и 169,6% соответственно). На микрофагоцитах больных с малым стажем приема опия рекомбинантный интерлейкин-1β нивелировал угнетающий эффект наркотика, при этом ИС по сравнению с изолированным действием героина изменялся с -18,4% до +1,6%. В отличие от начинающих наркоманов, при большей длительности приема наркотика «Беталейкин» усиливал стимулирующий эффект героина, при этом средние величины ИС нарастают в 1,8 раза, однако следует отметить, что все эти изменения происходили в пределах низких значений показателей (до 15,0%).

Что касается стимулированного пирогеналом НСТ-теста, то на донорских нейтрофилах цитокин только снимал ингибирующий эффект наркотика и при этом, в отличие от спонтанного теста, не увеличивал показатели (ИС=+5,1%). У не стажированных пациентов он в 2,3 раза снижал ингибирующий эффект наркотика, а в случае стажа свыше года, наоборот, усиливал его стимулирующее действие в 2,3 раза. Однако, как и в случае со спонтанным тестом, активизирующий эффект «Беталейкина» в присутствии героина имел место на низких исходных значениях, намного ниже, чем у доноров.

При оценке характера действия in vitro героина на экспрессию иммуноглобулиновых и комплементарных рецепторов нейтрофилов у доноров был установлен примерно одинаковый его ингибирующий эффект в отношении обоих видов рецепторов, что проявилось в снижении относительного числа соответствующих ретикулообразующих нейтрофильных лейкоцитов (ЕА-РОН и ЕАС-РОН) на 26,3% и 30,3% соответственно. В этих же условиях «Беталейкин» практически не оказывал достоверного влияния на экспрессию иммуноглобулиновых рецепторов, но повышал относительное количество определяемых микрофагоцитов с комплементарными

рецепторами на 54,5%, т.е. примерно в 1,5 раза. При сочетанном действии наркотика и цитокина почти в 2,0 раза снижался ингибирующий эффект первого на экспрессию иммуноглобулиновых рецепторов микрофагоцитов. Подобный, но менее выраженный характер действия героина и «Беталейкина» отмечался и на культурах нейтрофилов наркоманов, потребляющих опий менее года. В данном случае ингибирующий эффект наркотика на экспрессию обоих видов рецепторов был вдвое ниже, чем на донорских фагоцитах, а стимулирующий эффект на экспрессию комплементарных рецепторов соответственно ниже в 5,0 раз. При этом, цитокин при одновременном действии полностью нивелировал угнетающее действие героина, но не влиял достоверно на подобный эффект наркотика на иммуноглобулиновые рецепторы микрофагоцитов.

В отличие от функционально-метаболической активности, героин по средним значениям не оказывал существенного влияния на экспрессию обоих видов рецепторов фагоцитирующих клеток наркоманов со стажем, тогда как «Беталейкин» – усиливал на 11,9%, этот эффект сохранялся и в присутствии героина. Вместе с тем, на экспрессию комплементарных рецепторов нейтрофилов наркоманов со стажем наркотик не оказывал достоверного эффекта, однако в его присутствии резко усиливалось стимулирующее действие «Беталейкина», достигавшее 31,5%, тогда как без героина соответствующий показатель составил 24,8%.

Полученные данные, по оценке непосредственного эффекта героина и «Беталейкина» на отдельные функциональные показатели нейтрофильных лейкоцитов периферической крови инъекционных опийных наркоманов и доноров, свидетельствуют о наличии существенных отличий, обусловленных развитием физической зависимости и постоянной интоксикацией у больных наркоманией. Указанные факторы, за счет наличия опиоидных рецепторов на иммунокомпетентных клетках, включая фагоциты, приводят к значительной перестройке их чувствительности, как к наркотику, так и к цитокинам. Следствием последнего являются измененные реакции, в части кислородзависимого метаболизма клеток и экспрессии их иммуноглобулиновых и комплементарных рецепторов в ответ на воздействие героина и «Беталейкина» в условиях *in vitro*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Вырупаев К.В. Особенности иммунитета и гомеостаза у больных опийной наркоманией: Автореф. Дис. ... канд. мед. наук - Чита, 2000. – 27 с.
- 2 Гамалея Н.Б. Иммунопатология и иммунокоррекция у наркологических больных // Вопросы наркологии. - 2008. - №3. - С. 47-55.
- 3 Иванец Н.Н., Винникова М.А. Героиновая наркомания. - М.: Медпрактика, 2000. - 121 с.
- 4 Kest B., Lee C.E., McLemore G.L., Inturrisi C.I. An antisense oligodeoxynucleotide to the delta opioid receptor (DOR-1) inhibits morphine tolerance and acute dependence in mice // Brain Res. Bull. – 1996. - №39(3). - P. 185-188.
- 5 Eisenstein T.K., Hilburger M.E. Opioid modulation of immune responses effects on phagocyte and lymphoid cell populations // J. Neuroimmunol. - 1998. - №83(1-2). - P. 36-44.
- 6 Азнабаева Л.Ф., Арефьева Н.А., Рязанцев С.В., Симбирцев А.С., Тимчук Л.Э. Иммунотерапия Беталейкином в комплексном лечении больных гнойным риносинуситом с затяжным и хроническим течением. Методические рекомендации. – СПб.: 2008. - 22 с.
- 7 Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. - СПб.: Фолиант, 2008. - 552 с.
- 8 Козлов В.К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии. – СПб.: Диалект, 2008. – 296 с.
- 9 Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. Современные представления о защите организма от инфекции //Иммунология. - 2000.- №1.- С. 61-64.
- 10 Абаев Ю.К. Современные особенности хирургической инфекции // Вестн. хирургии. - 2005. - Т. 164, № 3. - С. 107-111.
- 11 Werner S.B., Passaro D., McGee J., et al. Wound botulism in California, 1951-1998: recent epidemic in heroin injectors // Clin. Infect. Dis. - 2000. - Vol. 31. - P. 1018-1024.
- 12 Govitrapong P., Suttitum N., Kotchabhakdi e.a. Alteration of immunologic function in heroin addicts and heroin withdrawal subjects // J. Pharmacol. Exp. Ther. - 2001. - Vol. 286, №2. - P. 883-889.

**Д.А. Нұрмақов, А.Н. Баймаханов, А.Ж. Нұрмақов, Т.Қ. Қожахметов,
Б.Ш. Жамеков, Т.Е. Қоңырбаев**

ОПИЙЫНДАҚ НАШАҚОРЛЫҚПЕН ЗАРДАП ШЕГЕТІН НАУҚАСТАРДЫҢ НЕЙТРОФИЛДІК ЛЕЙКОЦИТТЕРІНІҢ КЕЙБІР ФУНКЦИОНАЛДЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІНЕ ГЕРОИН ЖӘНЕ «БЕТАЛЕЙКИННІҢ» ТІКЕЛЕЙ ӘСЕРІН БАҒАЛАУ

Түйін: *In vitro* орындалған тәжірибеде героин донорлардың нейтрофилдік лейкоциттерінің оттегіге тәуелді метаболизміне, иммунологиялық экспрессиясына және комплементарлық рецептеріне ингибиторлық әсер ететіні дәлелденген. Героиннің бұндай әсерлері нашақорлық мерзімі бір жылдан асқанда азайады. «Беталейкин» героиннің аталған теріс әсерін біршама бәсеңдетеді.

Түйінді сөздер: героин, беталейкин, нейтрофилді лейкоциттер

D.A. Nurmakov¹, A.N. Baymakhanov¹, A.Zh. Nurmakov¹, T.K. Kozhachmetov²,
T.E. Konurbaev² B.Sh. Zhamekov²,
¹*Asfendiyarov Kazakh National Medical University,*
²*City Clinical Hospital №4, Almaty*

EVALUATION OF THE DIRECT EFFECT OF HEROINE AND "BETALEYKINA" ON INDIVIDUAL FUNCTIONAL INDICATORS OF NEUTROPHILIC LEUKOCYTES IN PATIENTS WITH OPTICAL DRUG ABUSE

Resume: Experiments *in vitro* have ascertained that heroin inhibits such functional indicators of donor's neutrophilic leukocytes as oxygen-dependent metabolism, expression экспрессия of immunoglobulin and complementary receptors. This effect is substantially lower in cases of drug addicts, especially those having more than one year record of drug use. «Betaleukin» in most cases levels negative effect of heroin on these functional parameters of microphagocytes.

Keywords: heroin, betaleukin, neutrophilic leukocytes