

СТАН ДИНАМІКИ ЛЕЙКОЦИТАРНИХ ІНДЕКСІВ ЗА УМОВ ЕНДОТОКСИКОЗУ НА ТЛІ ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА ФАРМАКОКОРЕКЦІЇ ОК-7

¹В.Д. Лук'ячук, д.мед.н., проф., ²Б.С. Шейман, д.мед.н., ¹І.О. Житіна, асп.,

¹К.М. Міщенко, к.мед.н. доц.

¹Державний заклад "Луганський державний медичний університет", м. Луганськ

²НДСЛ "Охматдит" МОЗ України, м. Київ

РЕЗЮМЕ. При застосуванні координаційної сполуки германію з калієм та лимонною кислотою (ОК-7) на моделі гострої ішемії головного мозку вже у ранній постішемичний період та впродовж всього терміну дослідження має місце тенденція до нормалізації лейкоцитарної формули, що свідчить про зменшення ступеня тяжкості ендогенної інтоксикації за умов досліджуваної патології.

Ключові слова: ОК-7, гостра ішемія головного мозку, ендотоксикоз, лейкоцитарні індекси.

РЕЗЮМЕ. При примененні координационного соединения германия с калием и лимонной кислотой (ОК-7) на модели острой ишемии головного мозга уже в раннем постшемическом периоде и на протяжении всего срока исследования имеет место тенденция к нормализации лейкоцитарной формулы, что свидетельствует об уменьшении степени тяжести эндогенной интоксикации в условиях исследуемой патологии.

Ключевые слова: ОК-7, острая ишемия головного мозга, эндотоксикоз, лейкоцитарные индексы.

SUMMARY. In administration of the coordination compound of germanium with potassium and citric acid (OK-7) on the model of acute cerebral ischemia in early post-ischemic period and over the period of study there is a tendency to normalization of leukocytal indexes, indicating a decrease in the severity of endogenous intoxication in the studied pathology.

Key words: OK-7, acute cerebral ischemia, endotoxemia, leukocytal index.

У світі стрімко зростає кількість мозкових інсультів, насамперед, ішемічного генезу [1]. У розвинених країнах судинні захворювання головного мозку є третьою за значимістю причиною смертності найчастіше за інші призводять до інвалідності. Ця проблема актуальна і для України, де близько 110 тис. населення щорічно захворює на інсульт, з них 35% людей працездатного віку [2].

На жаль, до теперішнього часу не досягнуто бажаних результатів у лікуванні інсульту, у тому числі ішемічного походження. Тому пошук та розробка високоефективних засобів лікарської терапії церебральної недостатності є вельми актуальним напрямком сучасної медицини.

Одним з перспективних шляхів пошуку нових засобів фармакотерапії ішемічного інсульту є комплексні дослідження оригінальних координаційних сполук германію, котрі володіють широким спектром фармакодинамічних ефектів, один із яких є найбільш значимим з патогенетичної точки зору — це детоксикуюча активність [3].

На моделі гострого ішемічного інсульту нами вперше було встановлено, що найбільш високу церебропротекторну активність у ряду оригінальних координаційних сполук германію з гідроксокислотами виявляє сполука германію, калію та лимонної кислоти під лабораторним шифром ОК-7 [4].

У патогенезі гострої цереброваскулярної недостатності одне з провідних місць посідає синдром ендогенної інтоксикації (СЕІ). На сьогодні для оцінки ступеня тяжкості перебігу СЕІ використовують низку індексів, розрахункових яких базується на показниках лейкоцитарної формули [5].

З огляду на вищевикладене метою роботи було дослідження СЕІ, стану антиоксидантних адаптаційних систем та їх динаміки з використанням розрахункових індексів у тварин з ішемічним інсультом на тлі фармакокорекції ОК-7.

Матеріали та методи дослідження. Досліди виконані на 72 статевозрілих білих нелінійних щурах обох статей масою 160-200 г відповідно до методичних рекомендацій ДП "Державний експертний центр МОЗ України" [6] в лабораторії кафедри фармакології ДЗ "Луганський державний медичний університет". В якості експериментальної моделі гострої ішемії головного мозку слугував патологічний процес, що розвивається у тварин при двосторонній одномоментній оклюзії загальних сонних артерій до місця їх біфуркації на зовнішню та внутрішню гілки під внутрішньоочеревинним натрійтіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Щурів поділяли на чотири групи: інтактну, контрольну (ішемія), дослідну (ішемія+ОК-7) та референтну (ішемія+пірацетам). Тваринам дослідної групи (ОК-7)* вводили за попередньо встановле-

* Висловлюємо щире вдячність професору І.Й. Сейфулліній та її співробітникам за синтез досліджуваної германієорганічної сполуки, що люб'язно надана для досліджень.

ним дозовим режимом: внутрішньоочеревинно (1% водний розчин) у дозі 65 мг/кг через 35 хвилин після перев'язування судин. Тваринам контрольної групи в такому ж режимі вводили еквівалентний об'єм ізотонічного розчину натрію хлориду. Референтний препарат пірацетам (Фармак, Україна) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 250 мг/кг також через 35 хвилин після оклюзії загальних сонних артерій [7, 8].

Нами була вивчена динаміка змін індексів токсичності, що визначали на основі загального клінічного аналізу крові. Дані параметри є показовими вже на ранніх стадіях захворювання, дозволяють оцінити динаміку СЕІ та стану антитоксичних адаптаційних систем в цілому, та оцінити ефективність лікування зокрема [9]. Були використані лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) [10], індекс співвідношення нейтрофіли/лімфоцити (ІСНЛ) [11], лімфоцитарний індекс (ЛІ) [12], індекс імунореактивності (ІІР) [13].

Лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ), запропонований Я. Кальф-Каліфом, визначали за формулою [10]:

$$\text{ЛІІ} = (4\text{М} + 3\text{Ю} + 2\text{П} + \text{С}) (\text{Пл.} + 1) : (\text{Л} + \text{Мо}) \times (\text{Е} + 1)$$

М — міелоцити; Ю — юні; П — паличкаоядерні; Пл. — плазмоцити; С — сегментоядерні лейкоцити; Л — лімфоцити; Мо — моноцити; Е — еозинофіли.

Нормальний рівень ЛІІ становить $(0,62 - 1,6) \pm 0,5$ од. При легкому ступені СЕІ знаходиться в межах $(1,7-2,8) \pm 0,64$ од.; при середньому ступені — $4,3 \pm 1,5$ од.; при тяжкому — більше ніж $8,1 \pm 0,34$ од.

ЛІ є одним з критеріїв функціонального стану лімфоцитарної системи, що вказує на співвідношення лімфоцитів до сегментоядерних нейтрофілів, тобто взаємовідношення гуморальної та клітинної ланок імунної системи [9]. Одним з найбільш важливих та найпростіших з точки зору визначення параметрів для оцінки інтоксикації є індекс співвідношення нейтрофіли/лімфоцити, який відображає співвідношення клітин неспецифічного та специфічного захисту організму [14].

Дослідження проводились через 1, 6, 24 години після перев'язування загальних сонних артерій до місця їх біфуркації. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням критерію t Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Отримані результати досліджень ЛІІ представлені на рис. 1.

Встановлено, що в контрольній серії показник ЛІІ вірогідно ($P < 0,001-0,05$) у середньому в 2,3 раза більший у порівнянні з таким, у відносно інтактних тварин, що можна пояснити формуванням СЕІ вже в перші години від початку церебральної ішемії. Одержані зміни у

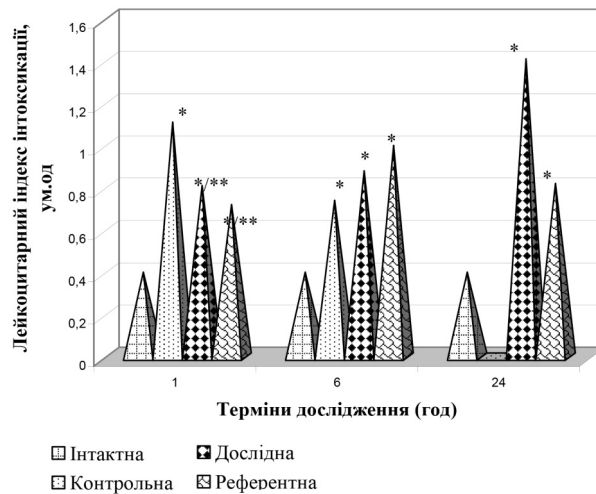


Рис. 1 Динаміка змін ЛІІ у тварин на фоні перебігу гострого ішемічного інсульту (n=8).

Примітки (тут та надалі):

- 1) - $P < 0,05$ вірогідно у порівнянні з інтактною серією;
- 2)** - $P < 0,05$ вірогідно у порівнянні з контрольною групою;
- 3)*** - $P < 0,05$ вірогідно у порівнянні з референтною групою

мазку крові при даному патологічному стані характеризуються зниженням кількості еозинофілів та лімфоцитів з одночасним збільшенням рівня нейтрофілів.

Зростання вмісту нейтрофілів, на нашу думку, є результатом підвищення продукції цитокінів (гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора та ін.) за умов впливу таких хемотаксичних факторів як ендотоксини і особливо лізосомальних ферментів, що зазвичай відбувається при гострому ішемічному інсульті. Крім цього, як відомо, нейтрофіли беруть участь у реалізації імунозалежних ушкоджень тканин і в антитілозалежних цитотоксичних реакціях [11]. В умовах розвитку критичного стану, що вивчається, відбувається адгезія активованих циркулюючих нейтрофілів (прикріплення до ендотелію судин), внаслідок чого вивільняються біологічно активні речовини, які зумовлюють системне ушкодження ендотелію та порушення органної перфузії [15].

Деякі цитокіни, що стимулюють гранулоцитарний паросток, наприклад, гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор, сприяють апоптозу еозинофілів, що відбувається в умовах відсутності специфічної для еозинофілів стимуляції продуктами дегрануляції тучних клітин, а також іншими факторами, та призводить до еозинопенії при гострому ішемічному інсульті [15].

У той же час, у дослідній групі тварин вже на 1-й годині дослідження рівень ЛІІ на 28% ($P < 0,05$) менший від такого в контрольній групі, та в усі терміни дослідження суттєво не відрізняється від референтної серії (рис. 1).

Таким чином, ЛІІ за умов застосування ОК-7 на тлі СЕІ при гострому ішемічному інсульті

виконує церебропротекторну функцію, обумовлює зменшення нейтрофільного зсуву лейкоцитарної формули, що цілком корелює із динамікою змін клінічної картини перебігу ішемії головного мозку в дослідній групі тварин.

З отриманих даних можна дійти висновку, що ЛІІ характеризує ступінь СЕІ і цей індекс можна застосовувати як прогностичний фактор ефективності лікування гострої цереброваскулярної недостатності ішемічного генезу.

Результати дослідження рівнів ЛІ наведені на рис. 2.

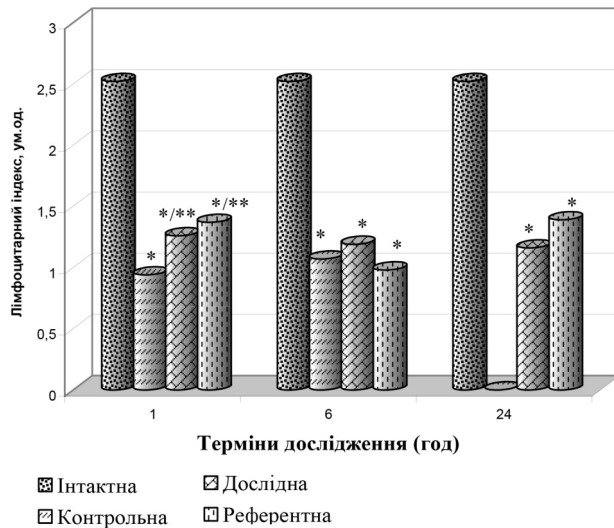


Рис. 2. Динаміка змін ЛІ за умов гострого ішемічного інсульту (n=8).

Встановлено, що у групі тварин контрольної серії величина лімфоцитарного індексу в середньому в 2,45 раза нижча за значення аналогічного показника в інтактній групі. Це, на нашу думку, пов'язане зі збільшенням кількості нейтрофілів, що спостерігається вже в перші години розвитку гострого ішемічного інсульту внаслідок некрозу тканини головного мозку та утворення ендотоксинів.

У дослідній же групі тварин величина даного показника вища під впливом ОК-7, ніж у контролі за 1 та 6 годин на 34 % (P<0,05) та 11 %, відповідно. Слід зауважити, що результати дослідження, що отримані у групі щурів лікованих ОК-7, достовірно не відрізняються в усі терміни дослідження від референтної групи. Це свідчить про стабілізацію стану клітинного імунітету при патологічному стані, що вивчається, за умов застосування потенційного церебропротектора ОК-7.

Результати дослідження ІСЛН представлені в табл. 1.

Отримані дані свідчать, що величина досліджуваного показника у контрольній серії достовірно зростає, навіть через 1 годину після розвитку гострої ішемії головного мозку, що, на нашу думку, може бути обумовлено знижен-

ням кількості лімфоцитів у крові, а також, як було показано при аналізі попередніх індексів, значною активацією нейтрофілів. У наступний термін дослідження (через 6 годин) відбувається тенденція до зниження ІСНЛ, що може свідчити про подальшу активацію продукції нейтрофілів на фоні зниженого гуморального імунітету.

У дослідній же групі, показник, що аналізується, достовірно не відрізняється (P>0,05) не лише від референтної, а й від інтактної серії тварин. Отримані результати можуть свідчити про зменшення гранулоцитозу, як активної ознаки загальної запальної реакції при гострій ішемії головного мозку за умов застосування потенційного церебропротектора ОК-7.

Результати дослідження індексу імунореактивності (ІІР), який відображає стан основних клітин-продуцентів цитокінів та дисбаланс у цитокіновому профілі [13], були наступними.

Таблиця 1

Вплив ОК-7 на динаміку змін лейкоцитарних індексів (n=8)

Група тварин	Стат. показник	Терміни дослідження (в годинах з моменту оклюзії сонних артерій)		
		1	6	24
Індекс співвідношення нейтрофілі/лімфоцити, ум.од.				
Інтактна	М ±m	0,80 0,01		
Контрольна (ішемія)	М ±m P ₁	1,12 0,09 <0,01	0,75 0,13 >0,05	-
Дослідна (ОК-7 +ішемія)	М ±m P ₁ P ₂ P ₃	0,83 0,07 >0,05 <0,05 >0,05	0,88 0,07 >0,05 >0,05 >0,05	1,47 0,39 >0,05 - >0,05
Референтна (Пірацетам + ішемія)	М ±m P ₁ P ₂	0,74 0,03 >0,05 <0,01	1,02 0,03 <0,001 >0,05	0,84 0,09 >0,05 -
Індекс імунореактивності, ум.од.				
Інтактна	М ±m	54,43 6,24		
Контрольна (ішемія)	М ±m P ₁	30,42 5,96 <0,05	26,00 2,64 <0,01	-
Дослідна (ОК-7 +ішемія)	М ±m P ₁ P ₂ P ₃	21,39 3,12 <0,01 >0,05 >0,05	38,79 6,19 >0,05 >0,05 <0,05	28,42 5,78 <0,05 - >0,05
Референтна (Пірацетам + ішемія)	М ±m P ₁ P ₂	25,96 1,83 <0,01 >0,05	20,07 1,86 <0,001 >0,05	22,89 7,83 <0,05 -

Примітки:

- 1) P₁ — вірогідність у порівнянні з інтактними тваринами;
- 2) P₂ — вірогідність у порівнянні з контролем;
- 3) P₃ — вірогідність у порівнянні з пірацетамом.

Встановлено, що у контрольній групі показники ПР у середньому в 1,9 раза були нижче, ніж у "здорових" тварин. Отриманий результат свідчить про низьку імунологічну реактивність організму, що, на нашу думку, є наслідком зменшення кількості лімфоцитів, які є головними клітинами імунної системи, котрі забезпечують адекватну імунну відповідь організму на надмірну кількість ендотоксинів ішемічного генезу. У свою чергу, отриманий результат може бути застосованим у ролі прогностичного критерію, що відповідає несприятливій прогностичній ознаці перебігу гострої церебральної недостатності.

У той самий час у тварин, яким з лікувальною метою вводили ОК-7, спостерігається чітка тенденція до збільшення ПР впродовж всього терміну дослідження. Експериментально доведено, що даний показник у дослідній групі у середньому вищий, ніж у контролі на 19 %, що опосередковано свідчить про здатність ОК-7 підвищувати відносний вміст лімфоцитів та викликати активацію гуморального імунітету. Останнє, у свою чергу, пояснює зменшення ступеня ендогенної інтоксикації при фармакокорекції гострої ішемії головного мозку за допомогою нового церебропротектора.

Висновки. Таким чином, отримані результати досліджень інтегральних показників змін лейкоцитарної формули крові дозволяють стверд-

жувати, що, визначивши їх рівень, можна судити про ступінь розвитку ендогенної інтоксикації за умов ішемічного інсульту, а також оцінювати ефективність лікування та прогноз захворювання. При застосуванні координаційної сполуки германію з калієм та лимонною кислотою (ОК-7) на моделі гострої ішемії головного мозку вже у ранній постішемійний період (починаючи з 1 години) та впродовж всього терміну дослідження (24 години) має місце тенденція до нормалізації лейкоцитарної формули, у порівнянні з показниками, що реєструються в групі контрольних тварин.

З огляду на результати аналізу низки лейкоцитарних індексів є всі підстави стверджувати, що всі вони мають односпрямований характер і пов'язані зі збільшенням кількості гранулоцитів та зменшенням кількості лімфоцитів за умов гострої ішемії головного мозку. Доведено, що для оцінки ступеня ендогенної інтоксикації та ефективності лікування доцільно використовувати найбільш простий та доступний з точки зору відтворення ІСНЛ.

З іншого боку, враховуючи важливість гуморального імунітету в патогенезі досліджуваного патологічного стану, також доцільно визначати ПР, як показник виразності перебігу ендотоксикозу при гострій ішемії головного мозку та оцінку ефективності фармакокорекції цього патологічного стану.

ЛІТЕРАТУРА

- Мищенко В. Н. Глиатилин в лечении больных в восстановительном периоде мозгового инсульта / В. Н. Мищенко, И. А. Лапшина // *Международный неврологический журнал*. — 2011. — № 5 (43). — С. 33–37.
- Мищенко Т. С. Эпидемиология цереброваскулярных заболеваний в Украине / Т. С. Мищенко // *Практична ангіоневрологія*. — 2009. — № 1/1. — С. 5–6.
- Лук'янчук В. Д. Нові шляхи цілеспрямованого пошуку засобів фармакологічної корекції екстремальних киснедефіцитних станів / В. Д. Лук'янчук // *Інтегративна антропологія*. — 2007. — № 1 (9). — С. 25–29.
- Скринінг і порівняльна оцінка протиішемічної ефективності серед координаційних сполук германію при гострій цереброваскулярній недостатності / В. Д. Лук'янчук, І. О. Житіна, І. Й. Сейфулліна [та ін.] // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. — 2010. — № 1–2 (14–15). — С. 61–64.
- Лабораторная диагностика синдрома эндогенной интоксикации: [метод. рекоменд. / под ред. д-ра мед.н., проф. И. П. Корюкиной. — П.: ГОУ ВПО "Пермская государственная медицинская академия Росздрава", — 2005. — 354 с.
- Доклинические исследования лекарственных средств: [метод. рекоменд. / под. ред. член-кор. АМН Украины А. В. Стефанова]. — К.: ГФЦ МЗ Украины, 2002. — 567 с.
- Сравнительная фармакологическая активность натриевой соли никотиноил гамма-аминомасляной кислоты и пирасетама в условиях моделирования ишемического и геморрагического повреждения головного мозга / В. В. Дунаев, И. Н. Башкин, В. С. Тишкин [и др.] // *Вестник МГОУ "Естественные науки"*. — 2011. — № 2. — С. 21–25.
- Treatment of acute ischemic stroke with piracetam. Members of the piracetam in Acute Stroke Study (PASS) group / P. P. De Deyn, J. D. Reuck, W. Deberdt [et. al.] // *Stroke*. — 1997. — Vol. 28(12). — P. 2347–2352.
- Сперанский И. И. Общий анализ крови — все ли его возможности исчерпаны? Интегральные индексы интоксикации как критерии оценки тяжести течения эндогенной интоксикации, ее осложнений и эффективности проводимого лечения / И. И. Сперанский, Г. Е. Самойленко, М. В. Лобачева // *Острые и неотложные состояния в практике врача*. — 2009. — № 6 (19). — С. 37–45.
- Кальф—Калиф Я. Я. О лейкоцитарном индексе интоксикации и его практическом значении / Я. Я. Кальф—Калиф // *Врачебное дело*. — 1941. — № 1. — С. 31–33.
- Черний В. И. Нарушения иммунитета при критических состояниях: особенности диагностики / В. И. Черний, А. Н. Нестеренко // *Внутренняя медицина*. — 2007. — № 2 (2). — С. 12–15.
- Исследование системы крови в клинической практике / Под ред. Г. И. Казинца и В. А. Монрова. М.: Триада—Х. — 1997. — 301 с.
- Шабалов Н. П. Гетерогенность системного воспалительного ответа при неонатальном сепсисе / Н. П. Шабалов, Д. О. Иванов, Н. Н. Шабалова // *Медицинский академический журнал*. — 2001. — Т. 1, № 3. — С. 81–90.
- Солошенко Э. Н. Прогноз рецидивов у больных аллергическими распространенными дерматозами по интегральным гематологическим показателям / Э. Н. Солошенко // *Международный медицинский журнал*. — 2011. — № 2. — С. 69–71.
- Шиффман Фред Дж. Патология физиологии крови / Фред Дж. Шиффман; пер с англ. Ю. В. Наточина. — М. — СПб.: "Издательство БИНОМ" — "Невский диалект", 2001. — 448 с.

Надійшла до редакції 15.11.2012 р.