

ЕФЕКТИВНІСТЬ L- КЛОПЕРАСТИНУ ФЕНДИЗОАТУ В ЛІКУВАННІ КОКЛЮШУ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ

Т.О. Кірсанова, С.В. Кузнєцов, Л.В. Мушенко, М.С. Зіміна

Резюме. У статті представлені результати дослідження показників системного та місцевого імунітету дітей, хворих на коклюш. Наведена клінічно-імунологічна оцінка ефективності протикашльових препаратів, діючою речовиною яких є L-клоперастину фендизоат. Клінічна картина коклюшу характеризується незначними симптомами інтоксикації, наявністю нападаподібного кашлю, частіше в нічний час, який закінчується виділенням в'язкого мокротиння, блюванням, іноді з репризами; коробковим відтінком легеневого звуку, жорстким диханням, наявністю провідних або сухих свистячих хрипів. У периферичній крові хворих дітей виявляється лейкоцитоз, лімфоцитоз, прищвидшена ШОС. У гострий період відмічається збільшення вмісту цитокінів, зниження рівня субпопуляцій CD3⁺ та CD4⁺ лімфоцитів на тлі фізіологічного рівня CD8⁺ та CD19⁺, пригнічення факторів місцевого імунітету. Більш швидке зникнення клінічних проявів коклюшу при використанні в комплексній терапії препаратів, що містять L-клоперастину фендизоат, ймовірно, відбувається за рахунок більш ранньої нормалізації показників цитокінового статусу, рівня субпопуляцій лімфоцитів та факторів місцевого імунітету.

Ключові слова: коклюш, діти, клінічна картина, імунітет, терапія.

EFFICIENCY OF L-CLOPERASTINE PHENDIZOAT IN TREATMENT OF WHOOPING COUGH IN EARLY AGE CHILDREN

T.A. Kirsanova, S.V. Kuznetsov, L.V. Mushenko, M.S. Zimina

Abstract. The article presents the results of an investigation of indexes of common and local immunity of children with whooping cough. Clinical and immunological efficiency of antitussive drugs, containing L-Cloperastine phendizoat has been estimated. Clinical manifestation of whooping cough is characterized by slight symptoms of intoxication, paroxysmal cough, more frequent at night resulting in viscous sputum discharge or vomiting, sometimes with reprises; at percussion – box sound, auscultation - harsh breathing with dry rales. In peripheral blood there are leukocytosis, lymphocytosis and accelerated ESR. Increased level of cytokines, decreased level of subpopulations of CD3⁺ and CD4⁺ lymphocytes against a background of physiological level of CD8⁺ and CD19⁺, decreased level of factors of local immunity in acute period are detected. The children, who used antitussive drugs containing L-Cloperastine phendizoat for their treatment are likely to recover sooner due to earlier normalization of cytokine status indexes, to subpopulation level as well as to local immunity factors.

Key words: whooping cough, children, clinical manifestation, immunity, treatment.

National Medical University (Kharkiv)

Рецензент – проф. О.К. Колоскова

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 66-70

Надійшла до редакції 25.10.2013 року

© Т.А. Кірсанова, С.В. Кузнєцов, Л.В. Мушенко, М.С. Зіміна, 2013

УДК 616.831-005.4-036.1-092.9

Т.І. Кметь

РЕАКЦІЯ КЛІТИН КОРИ ЛОБОВОЇ ЧАСТКИ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ НА ШЕМІЧНО-РЕПЕРFUЗІЙНЕ ПОШКОДЖЕННЯ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Резюме. Виявлено, що в корі лобової частки великих півкуль головного мозку 20-хвилинна каротидна ішемія з одногодинною реперфузією знижує щільність нервових клітин і підвищує щільність апоптичних. На 12-ту добу постішемичного періоду встановлено прогресуюче зниження щільності нейронів і зростання клітин з ознаками апоптозу та зниження щільності гліоцитів. Встановлено, що ішемічно-реперфузійне пошко-

дження мозку в ранньому постішемичному періоді спричиняє збільшення площі нервових та апоптично змінених клітин, а на 12-ту добу спостереження – зниження площі гліальних та нервових клітинах і зростання – апоптичних.

Ключові слова: головний мозок, ішемія-реперфузія, нейрони, глія, апоптоз.

Вступ. Останнє десятиліття минулого століття Всесвітньою організацією охорони здоров'я оголошено «десятиліттям мозку» [1]. І це не дар-

ма, оскільки церебральна патологія за розповсюдженістю посідає третє місце серед населення країн Європейського союзу і Американського

© Т.І. Кметь, 2013

контингенту, поступаючи лише захворюванням серцево-судинної системи і злосудним новоутворенням [3]. Незважаючи на зусилля світової наукової спільноти в боротьбі із судинною патологією, число гострих порушень мозкового кровообігу продовжує невпинно зростати і, як наслідок, летальність від інсультів посідає друге місце у світі [8]. Розвиток неповної глобальної ішемії головного мозку спричиняє порушення енергетики нейронів, глії та ендотеліальних клітин, що ініціює ішемічний каскад і пошкодження клітин ЦНС [5, 6, 9]. На сьогодні добре вивчені морфофункціональні зміни в корі фронтальної частки головного мозку за умов ішемії-реперфузії [4], однак ступінь реагування на дане втручання окремих клітин (нейронів та глії), а також процеси апоптозу залишаються недостатньо вивченими.

Мета дослідження. Вивчити динаміку змін щільності розташування нервових, гліальних та апоптичних клітин кори лобової (соматомоторної) частки кори великих півкуль головного мозку та їх морфометричні характеристики в шурів-самців за умов неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на шестимісячних самцях білих нелінійних шурів трьох груп: контрольні тварини; шури, яким здійснювали 20-хвилинну двобічну каротидну ішемію з одногодинною реперфузією; шури, яких виводили з експерименту на 12-ту добу після завершення періоду ішемії. Неповну глобальну ішемію мозку моделювали 20-хвилинним кліпсуванням загальних сонних артерій [2], після чого кровотік по цих судинах відновлювали. Для вивчення ранніх наслідків ішемії-реперфузії мозку частину тварин виводили з експерименту через 1 годину після завершення реперфузійного періоду, а відстрочених – на 12-ту добу. Моделювання каротидної ішемії та декапітацію здійснювали під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг маси тіла). Для морфологічних досліджень у лабораторних шурів виділяли праву та ліву півкулі головного мозку, фіксували їх у 10 % розчині Буена упродовж 24 годин і після стандартної гістологічної проводки заливали в парафінові блоки, з яких готували гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. Зображення кори мозку вивчали в спектрі люмінесценції на флуоресцентному мікроскопі AXIOSKOP (Zeiss, Німеччина) та за допомогою високочутливої відеокамери COHU-4722 (COHU Inc., США) вводили в комп'ютерну систему аналізу зображень VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Морфометричний аналіз клітин лобової частки неокортексу здійснювали в автоматичному режимі за допомогою програми, розробленої в спеціалізованому середовищі програмування VIDAS-2,5 (Kontron Elektronik, Німеччина) [7]. Визначали наступні характеристики нервових, гліальних та апоптичних клітин: сумарну (кількість клітин на 1 мм² площі зрізу кори мозку) та відносну (%) щільність розподілу окремих класів клітин, площу (мкм²), коефіцієнти форми та елонгації.

Експериментальні втручання здійснювали відповідно до основних положень GLP (1981 р.) Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.; Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р. і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Цифрові результати експериментальних досліджень опрацьовані на персональному комп'ютері у прикладних програмах «Statistica 6.0» та «SPSS 13» із використанням параметричного t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення.

Аналіз наведених даних свідчить (таблиця 1 і 2), що ішемія-реперфузія має неоднозначний вплив на різні класи клітин лобової частки кори півкуль головного мозку. Зокрема, щільність нервових клітин у ранньому постішемічному періоді вірогідно зменшилася на 8 % відносно показників у контрольних тварин, тоді як щільність гліальних клітин у цей період змін не зазнала. У даному терміні спостереження суттєво зросла щільність апоптичних клітин – у 2,6 раза.

Достовірно змінилося в цей період і відсоткове співвідношення досліджених видів клітин – на 12 % знизилася частка нейронів та у 2,5 раза зросла частка апоптичних клітин при незмінному відсотку гліальних. Це дозволяє дійти висновку, що в ранньому ішемічно-реперфузійному періоді апоптичних змін зазнають нервові клітини.

У пізньому постішемічному періоді (12-та доба) щільність апоптично змінених клітин підвищилася у вісім разів стосовно такої в контрольних шурів і в три рази – стосовно показника в ранньому терміні спостереження. У даному терміні спостереження щільність нервових та гліальних клітин зменшилася в 1,6 та 1,3 раза відповідно стосовно показника в контрольних шурів і в 1,5 та 1,4 раза – стосовно раннього терміну спостереження. Аналіз відсоткового співвідношення різних класів клітин кори лобової частки півкуль головного мозку показав достовірне зниження частки нейроцитів та гліальних клітин як щодо показників у контролі, так і стосовно раннього терміну (в 1,7 та 1,4 раза, в 1,5 та 1,4 раза відповідно) із суттєвим зростанням частки апоптичних клітин (у 7,7 раза та 3 рази відповідно). Таким чином, до 12-ї доби постішемічного періоду загинуть клітин нарастає і до даного терміну спостереження, ймовірно, цей процес не завершується. Характерно, що в динаміці спостереження співвідношення нейрони/гліальні клітини зменшується (контроль – 2,95; ранній постішемічний період – 2,54; пізній – 2,4), що свідчить про прогресуючу загибель нейронів.

Вивчення морфометричних параметрів даних клітин кори головного мозку в ранньому постішемічному періоді показало, що площа нервових та деструктивно змінених клітин вірогідно збільшилася на 14 % та 28 % відповідно відносно показників у контрольних тварин, тоді як гліальні клітини змін не зазнали.

Таблиця 1

**Щільність різних класів клітин у корі лобової частки півкуль шурів
з ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (на 1 мм²) (M±m)**

| Група спостереження | Класи клітин | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | Нервові клітини | Гліальні клітини | Апоптичні клітини |
| Контроль | <u>848,40±8,68</u> 70,74±0,66 | <u>304,59±9,68</u> 23,97±0,64 | <u>68,74±5,06</u> 5,29±0,38 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год | <u>784,70±16,40*</u> 62,16±1,01* | <u>326,04±13,13</u> 24,41±0,88 | <u>176,66±10,99*</u> 13,43±0,78* |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | <u>534,29±23,14*^</u> 41,75±1,79*^ | <u>233,89±13,93*^</u> 17,36±0,96*^ | <u>549,99±28,33*^</u> 40,89±1,85*^ |

Примітка. У чисельнику – сумарна щільність різних класів клітин на 1 мм² фронтальної частки кори; у знаменнику – відсоток різних класів клітин; вірогідність різниці порівняно з: * – контролем; ^ – ішемією-реперфузією (20 хв / 1 год) у контрольних тварин

Таблиця 2

**Морфометричні параметри різних класів клітин у корі лобової частки півкуль шурів
з ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M±m)**

| Група спостереження | Площа, мкм ² | Коефіцієнт форми | Коефіцієнт елонгації |
|------------------------------------|--|---|--------------------------------------|
| Нервові клітини | | | |
| Контроль | 101,88±1,16 | 0,790±0,002 | 0,712±0,002 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год | 115,93±1,72 p ₁ <0,001 | 0,764±0,003 p ₁ <0,001 | 0,664±0,003 p ₁ <0,001 |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | 81,21±1,67 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 | 0,766±0,005 p ₁ <0,001 | 0,722±0,005 p ₂ <0,001 |
| Гліальні клітини | | | |
| Контроль | 19,37±0,17 | 0,712±0,005 | 0,673±0,005 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год | 19,16±0,20 | 0,730±0,006 p ₁ <0,05 | 0,658±0,007 |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | 18,30±0,32 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 | 0,65±0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 | 0,653±0,009 |
| Апоптичні клітини | | | |
| Контроль | 27,29±1,65 | 0,736±0,009 | 0,634±0,011 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год | 34,83±2,10 p ₁ <0,05 | 0,706±0,009 p ₁ <0,05 | 0,58±0,01 p ₁ <0,01 |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | 35,46±0,85 p ₁ <0,001 | 0,687±0,006 p ₁ <0,001 | 0,590±0,006 p ₁ <0,01 |

Примітка. – вірогідність різниці порівняно з: p₁ – контролем (p<0,05, p<0,01, p<0,001); p₂ – ішемією-реперфузією (20 хв/1 год) у контрольних тварин (p<0,05, p<0,01, p<0,001)

У пізньому ішемічно-реперфузійному періоді (12-та доба) площа нейронів та глії вірогідно знизилася на 20 % та 6 % відповідно стосовно показників у контрольних шурів і на 30 % та 6 % – стосовно раннього терміну спостереження. Площа апоптично змінених клітин у віддалений термін спостереження зросла на 30 % відносно показника в контрольній групі тварин.

У ранньому періоді ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку виявлено зниження коефіцієнта форми нервових та апопти-

чних клітин кори лобової частки півкуль на 4 % та 5 % відповідно щодо показників у контрольних тварин, а в гліальних клітинах спостерігалася зростання даного параметра на 3 %. Коефіцієнт елонгації в досліджуваному терміні ішемії в нейронах та деструктивно змінених клітинах зменшився на 7 % та 9 % відповідно відносно показників в інтактній групі лабораторних шурів, а в нейроглії цей показник не змінився.

В умовах пізнього ішемічно-реперфузійного періоду коефіцієнт елонгації нервових клітин

підвищився на 9 % стосовно раннього терміну спостереження, в апоптичних клітин, навпаки, зменшився на 7 % відносно показників у контрольній групі тварин. У гліальних клітинах кори лобової частки великих півкуль головного мозку достовірних змін даного показника не виявлено.

Висновки

1. У корі лобової частки головного мозку ішемія-реперфузія знижує щільність нервових і підвищує щільність апоптичних клітин в обидва терміни спостереження та знижує щільність гліальних клітин на 12-ту добу.

2. Ішемічно-реперфузійне пошкодження спричиняє збільшення площі нейронів та апоптично змінених клітин у ранньому постішемічному періоді. На 12-ту добу після моделювання каротидної ішемії-реперфузії знижується площа нервових та гліальних клітин і зростає – апоптичних.

3. Коефіцієнти форми та елонгації клітин кори лобової частки головного мозку в різні терміни спостереження мають різноспрямований характер.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно провести порівняльний аналіз реакції різного класу клітин кори лобової частки головного мозку на ішемічно-реперфузійне пошкодження у контрольних тварин та щурів із цукровим діабетом.

Література

1. Роль гена C-FOS в регуляції типу нейрональної гибели в условиях экспериментального нарушения мозгового кровообращения / И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов, С. В. Павлов [и др.] // Патология: матеріали V національного Конгресу патофізіологів України [«Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів»]. – ЗДМУ – 2008. – Т. 5, № 3. – С. 91.
2. Супрун Е.В. Вивчення антигіпоксичної активності ронколейкіну в умовах експериментального ішемічного інсульту / Е.В. Супрун // Одес. мед. ж. – 2010. – № 6 (122). – С. 22-25.
3. Рукан Т.А. Морфофункциональные изменения нейронов фронтальной коры головного мозга крыс в условиях его ишемии-реперфузии / Т.А. Рукан, Н.Е. Максимова, С.М. Зиматкин // Ж. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2012. – № 4 (40) – С. 35-39.
4. Donnan G. Stroke / G. Donnan, M. Fisher, M. Macleod [et al.] // The Lancet. – 2008. – Vol. 371, № 9624. – P. 1612-1623.
5. Hertz L. Bioenergetics of cerebral ischemia: a cellular perspective / L. Hertz // Neuropharmacology. – 2008. – № 55 (3). – P. 289-309.
6. Kolesnik Y.M. Image analysis system for quantitative immunofluorescence measurement / Y.M. Kolesnik, A.V. Abramov // Microscopy and Analysis. – 2002. – № 5. – P. 12-16.
7. Mathers C. Global and regional causes of death / C. Mathers, T. Boerma, D. Ma Fat // Brit. Med. Bull. – 2009. – № 92. – P. 7-32.
8. Ramanathan D. A form of motor cortical plasticity that correlates with recovery of function after brain injury / D. Ramanathan, J. Conner, M. Tuszyński // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2006. – Vol. 103, № 30. – P. 11370-11375.

РЕАКЦИЯ КЛЕТОК ЛОБНОЙ ДОЛИ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС С ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРFUЗИОННЫМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ

Т.И. Кметь

Резюме. Обнаружено, что в коре лобной доли больших полушарий головного мозга 20-минутная каротидная ишемия с одночасовой реперфузией снижает плотность расположения нервных клеток и повышает плотность апоптических. На 12-е сутки постисшемического периода установлено прогрессирующее снижение плотности нейронов и возрастание плотности клеток с признаками апоптоза, а также снижение плотности глиоцитов. Установлено, что в раннем периоде ишемически-реперфузионного повреждения мозга имеет место увеличение площади нервных и апоптически измененных клеток, а на 12-е сутки наблюдения – снижение площади глияльных и нервных клетках и повышение – апоптических.

Ключевые слова: головной мозг, ишемия-реперфузия, нейроны, глия, апоптоз.

RESPONSE OF THE RATS' FRONTAL LOBE CELLS OF THE CEREBRAL CORTEX TO ISCHEMIA-REPERFUSION DAMAGE

Т.И. Кметь

Abstract. A twenty minute carotid ischemia with one-hour reperfusion decreases the density of the nervous cells and increases the density of the apoptotic cells in the cerebral cortex frontal lobe. The progressive decline in neurons density, its increase in cells with signs of apoptosis as well as reduction of gliocytes density was revealed on the 12th day of observation. Ischemia-reperfusion damage of the brain causes increase of the area of neurons and cells with signs of apoptosis in the early postischemic period and reduction of the area of gliocytes and neurons and increase of apoptotic cells area on the 12th day of observation.

Key words: brain, carotid ischemia-reperfusion, neurons, glia, apoptosis

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 70-73

Надійшла до редакції 30.10.2013 року