

© Герасимчук М.Р.

УДК: 616.155.3+616-099+616.381-002

Герасимчук М.Р.

ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет", кафедра патологічної фізіології (вул. Грушевського 2, м. Івано-Франківськ, Україна, 76008)

## РОЛЬ ЛЕЙКОЦИТІВ ТА ЇХНІХ ІНДЕКСІВ В ОЦІНЦІ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ АБДОМІНАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ

**Резюме.** Дослідження проведено на 146 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-230г, яким було змодельовано гостру абдомінальну патологію: гострий розлитий перитоніт (ГРП) та гостру кишкову непрохідність (ГКН). У крові тварин на 1, 12, 24 та 48 год визначали лейкоцитарні індекси інтоксикації (ЛІІ): ЛІІ за Кальф-Каліфом, Рейсом, Островським, ядерний індекс ступеня ендотоксикозу (ЯІСЕ) та індекс ядерного зсуву (ІЯЗ).

Встановлено, що розвиток ГРП та ГКН супроводжувався інтенсивним зростанням клітинних маркерів ендогенної інтоксикації на ранніх етапах. Через 1 год, після початку дослідження найпершими значно зростали ЛІІ за Рейсом та Островським в обох експериментальних групах. Максимально активним виявився показник ЛІІ за Кальф-Каліфом, який інтенсивно наростав під кінець першої доби та продовжував прогресувати до завершення дослідження.

Значне підвищення ЛІІ при ГРП та ГКН у віддалені терміни експерименту варто розцінювати як активну роботу фагоцитарної ланки імунітету з подальшим прогресуванням дисфункціональних змін, що підтверджено повільним наростанням ЯІСЕ та ІЯЗ. Така реакція відображає неспроможність ендогенних метаболічних та клітинних захисних механізмів та вимагає пошуку ефективних шляхів підвищення активності протективних систем.

**Ключові слова:** лейкоцити, лейкоцитарні індекси, ендогенна інтоксикація, перитоніт, кишкова непрохідність.

### Вступ

У хірургічній практиці дуже часто доводиться зустрічатись з абдомінальною патологією, серед якої найчастішими є гострий розлитий перитоніт (ГРП) та гостра кишкова непрохідність (ГКН), що протягом багатьох років залишаються актуальною проблемою невідкладної хірургії та реаніматології, за рахунок високого рівня смертності. Так, летальність при ГРП становить 20 - 92,8%, що має пряму залежність до кількості уражених органів, залучених у патологічний процес [Torab et al., 2011]. Смертність за умов розвитку ГКН різної етіології досягає 15 - 50%, тоді як при поєднанні з сепсисом становить більше 75% і не має помітної тенденції до зниження [Макаров, 2009].

Однією з превалюючих складових, які характеризують перебіг інтоксикаційного та дисметаболічного синдрому при ГРП та ГКН, є вираження процесів ендогенної інтоксикації (ЕІ) [Торатадзе, 2009]. Часто патологічні стани супроводжуються розвитком ЕІ, яку можна охарактеризувати як поліетіологічний і поліпатогенетичний синдром, зумовлений накопиченням у тканинах і біологічних рідинах ендогенних токсичних субстратів - надлишку продуктів нормального або спотвореного метаболізму. Враховуючи той факт, що лейкоцити виконують роль клітинного імунітету, то відповідно їхнє співвідношення може цілком об'єктивно характеризувати основні етапи розвитку ЕІ.

Для своєчасного прогнозування тяжкості перебігу гострої хірургічної патології необхідна оцінка реакції організму на інфекційний процес. Одним з найбільш простих і доступних методів визначення реакції імунної системи при різних захворюваннях є визначення лейкоцитарних індексів (ЛІ) - співвідношення популяцій клітин крові, які побічно дозволяють судити про переважання відповіді про- або протизапальних цитокінів [Сипливыи и др., 2009]. Водночас, аналіз даних літера-

тури свідчить про недостатнє висвітлення значущості ЛІ при прогнозуванні тяжкості перебігу та результату захворювання у хворих з гострою хірургічною патологією, що робить доцільним вивчення й оцінку використання різних лейкоцитарних індексів інтоксикації (ЛІІ).

Метою дослідження було вивчення діагностичних можливостей активності показників лейкоцитарних індексів інтоксикації при абдомінальній патології.

### Матеріали та методи

Дослідження проводилось на 146 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-230г, які були розділені на 5 груп: I - інтактна група тварин, II - контрольна (внутрішньо-оочеревинно вводили фізіологічний розчин, з розрахунку 1 мл на 100 г маси щура), III - контрольна (проводили лапаротомію, виводили кишечник, потім вправляли і зашивали черевну стінку), IV - дослідна, з відтвореним ГРП (внутрішньо-оочеревинно ввели 10% калову суспензію з розрахунку 1 мл на 100 г маси щура та V - дослідна, з відтвореною ГКН (перев'язували сигмоподібну кишку лігатурою). Усі дослідження проводили під кетаміновим наркозом (40 мг/кг). Утримання тварин та маніпуляції проводилися у відповідності до положень Закону України "Про захист тварин від жорстокого відношення" (N 1759-VI від 15.12.2009) та Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин.

Забір крові для дослідження у тварин здійснювали через 1, 12, 24 та 48 год. від початку моделювання перитоніту та кишкової непрохідності. Об'єктом дослідження були лейкоцити крові.

Для оцінки ендогенної інтоксикації за допомогою лейкоцитів використовували наступні індекси [Сипливыи и др., 2009]:

1. Лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) за Я.Я. Кальф-Каліфом, ЛІІ = (4 x мієлоцити + 3 x метамієлоци-

ти + 2 x паличкоядерні нейтрофільні гранулоцити (НГ) + 1 x сегментоядерні НГ) x (плазмацити+1) / [(моноцити + лімфоцити) x (еозинофільні гранулоцити + 1)].

2. ЛІІ в модифікації Б.А. Рейса, ЛІІ Рейса = (міелоцити+ метаміелоцити + паличкоядерні НГ + сегментоядерні НГ) / (моноцити + лімфоцити + еозинофільні гранулоцити).

3. ЛІІ в модифікації В.В. Островського, ЛІІ за Островським = (метаміелоцити + міелоцити + паличкоядерні НГ + сегментоядерні НГ + плазматичні клітини) / (моноцити+лімфоцити+еозинофільні гранулоцити).

4. Ядерний індекс ступеня ендотоксикозу (ЯІСЕ) за Г.Д. Даштаянц = (моноцити + метаміелоцити + паличкоядерні НГ) / сегментоядерні НГ.

5. Індекс ядерного зсуву (ІЯЗ) = (міелоцити + метаміелоцити + паличкоядерні НГ) / сегментоядерні НГ.

Статистичну обробку матеріалу проводили на персональному комп'ютері з використанням пакетів прикладних програм для статистичного аналізу "StatSoft/Statistica 7.0". Аналіз динаміки показників в кожній групі проводили за допомогою критеріїв непараметричної статистики. Результати вважалися достовірними, якщо коефіцієнт вірогідності був меншим, або дорівнював  $p < 0,05$ , що є загальноприйнятим у медико-біологічних дослідженнях.

### Результати. Обговорення

Базуючись на аналізі показників клітинного складу крові розраховано ЛІ на початку експерименту та в різні його терміни. Варто зазначити, що у визначених гематологічних індексах у тварин із експериментальними ГРП та ГКН, котрі вижили та загинули, на початку дослідження не виявлено достовірних відмінностей.

У результаті проведеного дослідження встановлено неоднозначну реакцію лейкоцитарної відповіді на розвиток патологічних процесів уже через 1 год. від початку дослідження у IV та V дослідних групах. Так, ЛІІ у першій зростає у двічі ( $p < 0,05$ ), а у другій на 1,7 рази ( $p < 0,05$ ). Подібну тенденцію мали й ЛІ за Рейсом та Островським з прогресуванням до завершення експерименту. При цьому як у тварин з ГРП, так і з ГКН на першу годину відзначали тенденцію до зменшення ЯІСЕ та ІЯЗ, що зберігалась до 12 год. і була більш вираженою у V групі. Проте, у піддослідних щурів, які загинули у ранні терміни відзначались значно вищі достовірні показники усіх ЛІ з максимальним прогресуванням до 12 години дослідження. Останні дані можуть вказувати на інтенсивне використання білих кров'яних тілець у процесах клітинного імунітету і швидке виснаження фагоцитарних резервів без подальшої адекватної заміни втрачених формених елементів крові.

Через добу від початку дослідження відзначалось достовірне зростання усіх ЛІ з більшою інтенсивністю у IV групі тварин, а у V - ІЯЗ залишався близьким до контрольних значень. Так, у щурів з експериментальним перитонітом встановлені наступні показники, які вірогідно перевищували контрольні: ЛІІ - 9,0 рази, за Рей-

сом - 2,8 рази, за Островським - 2,9 рази, ЯІСЕ - 1,4 рази та ІЯЗ - 1,5 рази. У тварин із змодельованою кишковою непрохідністю визначено дещо нижчі значення ЛІ, хоча вони достовірно зросли щодо контрольних значень: ЛІІ у 5,7 рази, за Рейсом - 2,6 рази, за Островським - 2,9 рази, ЯІСЕ - 1,2 рази, а ІЯЗ залишався на рівні контролю.

На 48-му год. експерименту ЛІІ перевищував контроль у IV групі в 12,4 рази ( $p < 0,05$ ), а в V - 8,0 рази ( $p < 0,05$ ). Значення ЛІ за Рейсом та Островським зростає більш як у 4 рази, а ЯІСЕ та ІЯЗ у двічі як у тварин з ГРП, так і з ГКН. Під час другої доби дослідження загинуло більше 68% та 41% щурів відповідно у IV та V групах.

За результатами проведеного дослідження встановлено, що найбільш чутливими та ранніми лейкоцитарними індексами оцінки ступеня розвитку ендогенної інтоксикації як у тварин з ГРП, так і з ГКН були ЛІІ за Рейсом та Островським, які достовірно перевищували інші показники протягом перших 12 годин. Найбільш показовим маркером ендотоксемії серед ЛІ через 24 год експерименту виявився ЛІІ, який розраховували за формулою Кальф-Каліфа. Останній превалював над показниками контролю в IV групі у 9,0 рази ( $p < 0,05$ ) та у V - 5,7 рази ( $p < 0,05$ ), тоді як інші індекси не досягали трикратного порогу. Окрім того необхідно зазначити, що ЛІІ при ГРП у двічі перевищував показники контролю вже на 1 год. дослідження, що також свідчить на користь його чутливості, яка обумовлена перш за все інтенсивністю інфекційного процесу. Так, заданими літератури ЛІІ є одним з основних показників, що характеризують ступінь EI, який за сучасними уявленнями відображає гостроту запалення в організмі та реакцію на ендотоксемию [Соловей та ін., 2010, Artur Bauhofer et al., 2008, Gerasymchuk et al., 2013].

Варто звернути увагу також на ЯІСЕ та ІЯЗ, які на початку першої доби дослідження знижувалися практично у двічі, а до її завершення дещо перевищували показники контролю. Така реакція клітинної ланки захисту вказує на надмірне залучення лейкоцитів, зокрема НГ, у запальний процес, їхню значну загибель, через що вони й отримали назву "камікадзе" гострого запалення, сприяючи паралельному росту EI [Сипливий і др., 2009; Torab et al., 2011]. І, як результат амортизаційних втрат, гіперпродукція незрілих форм, що є притаманним для гострої запальної реакції, внаслідок зростання виділення цитокінів (гранулоцитарного колонієстимулюючого росткового фактору та ін.) при дії таких хемотаксичних чинників як ендотоксини, компоненти комплементу, інтерлейкіни, лізосомальні ферменти тощо [Соловей та ін., 2010; Gurleyik et al., 2007]. Аналогічні фактори мають стимулюючу дію і на моноцитарний ріст, впливаючи в основному на підвищення функціональної активності макрофагів у тканинах [Gerasymchuk et al., 2013].

Тенденція до зростання ЛІ зберігалась і до завершення другої доби експерименту. Лейкоцитарні по-

казники EI в обох експериментальних групах досягли практично однакових рубежів без достовірної різниці між ними. Такий результат можна інтерпретувати як реакцію клітинної ланки імунного захисту у відповідь на прогресивне наростання явищ ендотоксемії, а також поступове виснаження фагоцитарної активності, підтвердженням чому стало повільне підвищення показників ЯІСЕ та ІЯЗ.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Розвиток гострої абдомінальної патології, зумовленої різними етіологічними чинниками, супроводжується потенціюванням ендогенної інтоксикації.

2. Основними ранніми клітинними маркерами EI при

ГРП та ГКН виступають показники лейкоцитарних індексів інтоксикації за Рейсом та Островським, які значно зростають уже з 1 год. моделювання патологічного процесу в абдомінальній порожнині. ЛІІ за Кальф-Каліфом виявився більш доцільним для використання в кінці першої доби дослідження. Значне підвищення ЛІІ при ГРП та ГКН у віддалені терміни експерименту варто розцінювати як активну роботу фагоцитарної ланки імунітету з подальшим прогресуванням дисфункціональних змін, що підтверджується повільним наростанням ЯІСЕ та ІЯЗ.

Така реакція відображає неспроможність ендогенних метаболічних та клітинних захисних механізмів і вимагає в подальшому пошуку ефективних методів шляхів підвищення активності протективних систем.

### Список літератури

- Макаров А. И. Лабораторные критерии системной воспалительной реакции при абдоминальных хирургических инфекциях / А. И. Макаров, Н. А. Воробьева, Л. К. Добродеева, В. И. Макарова // Хирургия. - 2009. - № 5. - С. 40 - 45.
- Сипливый В. А. Использование лейкоцитарных индексов для прогнозирования исхода перитонита / В. А. Сипливый, Е. В. Конь, Д. В. Евтушенко // Клін. хірургія. - 2009. - № 919. - С. 21-26.
- Соловей Ю. М. Показники рівня ендотоксикозу, неспецифічної резистентності та лейкограми при гострому експериментальному перитоніті / Ю. М. Соловей, В. П. Польовий, Р. І. Сидорчук, М. І. Проскурняк // Заг. патологія та патологічна фізіологія. - 2010. - Т. 5, № 3 - С. 329 - 332.
- Торотадзе Н. Н. Особенности патогенеза энтерогенного компонента эндогенной интоксикации у больных с послеоперационным перитонитом / Н. Н. Торотадзе // Харк. хірургічна школа. - 2009. - № 22 (34). - С. 190 - 192.
- Differential effects of antibiotics in combination with G-CSF on survival and polymorphonuclear granulocyte cell functions in septic rats / A. Bauhofer, M. Huttel, W. Lorenz [et al.] // BMC Infect. Diseases. - 2008. - № 8. - P. 55 - 65.
- Effects of Granulocyte-Colony Stimulating Factor on the Polymorphonuclear Leukocyte Activity and the Course of Sepsis in Rats with Experimental Peritonitis / G. Gurleyik [et al.] // Surg. Today. - 2007. - № 37. - P. 401 - 405.
- Gerasymchuk M. R. The role of endogenous intoxication and neutrophils in mechanisms of acute lung injury in case of experimental peritonitis / M. R. Gerasymchuk, L. M. Zayats, V. V. Cherkasova // Вестник КазНМУ. - 2013. - № 5. - С. 76 - 80.
- Peritoneal Resorption Capacity for Lipopolysaccharide and Interleukin-6 in Acute Zymosan-Induced Chemical Peritonitis / F. C. Torab, F. M. Abu-Zidan, S. Al-Salam [et al.] // Eur. Surg. Res. - 2011. - № 46. - P. 127 - 132.

*Герасимчук М.Р.*

### РОЛЬ ЛЕЙКОЦИТОВ И ИХ ИНДЕКСЫ В ОЦЕНКЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АБДОМИНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

**Резюме.** Исследование проведено на 146 белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-230г, которым была смоделирована острая абдоминальная патология: острый разлитой перитонит (ОРП) и острая кишечная непроходимость (ОКН). В крови животных на 1, 12, 24 и 48 ч определяли лейкоцитарные индексы интоксикации (ЛИИ): ЛИИ по Кальф-Калифу, Рейсу, Островскому, ядерный индекс степени эндотоксикоза (ЯИСЭ) и индекс ядерного сдвига (ИЯС). Установлено, что развитие ОРП и ОКН сопровождалось интенсивным ростом клеточных маркеров эндогенной интоксикации на ранних этапах. Через 1 час после начала исследования первыми значительно возросли ЛИИ по Рейсу и Островскому в обеих экспериментальных группах. Максимально активным оказался показатель ЛИИ по Кальф-Калифу, который интенсивно нарастал под конец первых суток и продолжал прогрессировать до завершения исследования. Значительное повышение ЛИИ при ОРП и ОКН в отдаленные сроки эксперимента следует расценивать как активную работу фагоцитарного звена иммунитета с последующим прогрессирующим дисфункциональным изменением подтверждено медленным нарастанием ЯИСЭ и ИЯС. Такая реакция отражает неспособность эндогенных метаболических и клеточных защитных механизмов и требует поиска эффективных путей повышения активности протективных систем.

**Ключевые слова:** лейкоциты, лейкоцитарные индексы, эндогенная интоксикация, перитонит, кишечная непроходимость.

*Gerasyimchuk M. R.*

### THE ROLE OF LEUKOCYTES AND THEIR INDEXES IN THE EVALUATION OF ENDOGENOUS INTOXICATION AT AN EXPERIMENTAL ABDOMINAL PATHOLOGY

**Summary.** The study was carried out on 146 Wistar white male rats (180-230g), which were modeled acute abdominal pathology such as: acute diffuse peritonitis (ADP) and acute intestinal obstruction (AIO). In the blood of animals after 1, 12, 24 and 48 h were determined leukocyte intoxication indexes (LII): LII by Kalf-Kalif, Reis, Ostrovsky, nuclear index of the degree of endotoxemia (NIDE) and nuclear shift index (NSI). It was discovered that the development of ADP and AIO accompanied by intensive growth of cellular markers of endogenous intoxication in the early stages. After 1 h of the research LII by Reis and Ostrovsky in both experimental groups began to increase. The maximum active rate was index LII by Kalf-Kalif, which grew rapidly at the end of the first day and till the end of the study. Significant increase of LII in case of ADP and AIO in the later periods of the experiment can be viewed as active phagocytic immunity with further progression of dysfunctional changes that proved by slow increase of NIDE and NSI indexes. This

reaction shows the inability of endogenous metabolic and cellular defense mechanisms and requires finding effective ways to increase the activity of protective systems.

**Key words:** leukocytes, leukocyte indexes, endogenous intoxication, peritonitis, intestinal obstruction.

Стаття надійшла до редакції 26.03.2014 р.

Герасимчук Марта Романівна - к. мед. н., доцент кафедри патологічної фізіології ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет"; +38 063 683-35-00; Marta\_solomea@yahoo.com

© Бібікова В.М.

УДК: 616.831-005.1-002.1-008.64-091.8-092.9

**Бібікова В.М.**

ДЗ "ДМА МОЗ України", кафедра патологічної фізіології (вул. Дзержинського, 9, м. Дніпропетровськ, Україна, 49000)

## МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНИХ ЗМІН У ТКАНИНАХ МОЗКУ ЗА УМОВ ПОВТОРНОГО ІНТРАЦЕРЕБРАЛЬНОГО КРОВОВИЛИВУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

**Резюме.** В експерименті на щурах лінії Вістар проведено морфологічне дослідження тканин мозку у віддаленому періоді після повторного внутрішньочеребрального крововиливу для визначення ступеня нейроцистотрофічних змін. Нейродегенеративний процес пов'язаний, у першу чергу, з загибеллю нейронів.

**Ключові слова:** геморагічний інсульт, внутрішньомозковий крововилив, нейродегенерація, внутрішня капсула.

### Вступ

Судинні ураження мозку в економічно розвинених країнах до кінця нашого століття потрапили в категорію провідних причин смертності населення, складаючи в її структурі близько 14% [Віничук, 1995]. Щорічно у світі мозковий удар наздоганяє більше 16 млн. осіб. Мозковий інсульт складає більше 30% всіх випадків смерті від серцево-судинних захворювань [Волошин, Тайшлін, 1991]. Ризик повторного інсульту складає 10-15%, в подальшому знижуючись до 5-8% в рік. Разом з цим, дані по дослідженню повторних крововиливів в мозок дуже незначні, морфологічна картина мозку за схожих умов і завдань проведення експерименту майже не досліджена.

Метою дослідження, що проводиться, є вивчення структурних змін в корі і підкоркових утвореннях лобової долі у відновному періоді.

### Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження був мозок статевозрілих щурів обох статей лінії Вістар вагою 180±22,5 гр. Експеримент проводився на двох групах тварин: 1 - контрольна група (n=10); 2 - щури з повторною експериментальною інтрацеребральною геморагією (n=40). Моделювалося введення аутокрові в область заздалегідь пошкодженої внутрішньої капсули [Макаренко, Косицын, 2002]. Ремодельовання проведено через 6 місяців (n = 20). Тварини виводилися з експерименту через 3 місяці методом декапітації. Зрізи забарвлювалися гематоксилін-еозинном, толюдиновим синім. Зрізи мозку аналізувалися методом світлової і електронної мікроскопії.

### Результати. Обговорення

Проведений порівняльний аналіз змін в контрольній

групі і групі після двох операцій крововиливу в мозок у відновний періоді. Тканина головного мозку не змінилася в контролі (правої і лівої лобової долі), але спостерігаються зміни, очевидно, пов'язані з процесом забивання тварини, тобто помірно виявляється периваскулярний і перицелюлярний набряк [Хі, Кеер, 2002], особливо в корі. Пірамідні клітини дещо зморщені, їх ядра трохи ущільнені, гіперхромно забарвлені. Дрібні судини дещо повнокровні, крововиливів немає. На мікропрепаратах мозку щурів 2 групи відзначаються неспецифічні зміни, характерні для гістологічної мікроскопічної картини після гострої недостатності мозкового кровообігу [Lansberg, Thijs, 2007]. У корі лівої лобової долі відзначається виражений набряк, дещо більше, ніж в контрольній серії дослідів, найбільше навколо гігантських пірамідних нейронів (клітин Беца). У нейронах відзначається білкова дистрофія. Пірамідні нейрони дуже дрібні, з дещо гіперхромно забарвленими, зморщеними, ущільненими ядрами, або ж визначаються їх фрагменти. У глибоких ділянках головного мозку набряк практично не виражений і виявляється лише навколо судин. Клітини розташовані хаотично; більше, ніж в корі, виражена дистрофія. Ядра нейронів різко зморщені, ущільнені, визначаються їх фрагменти. Ядра нейронів, що оточують провідні шляхи, злегка ущільнені і гіперхромно забарвлені. У корі правої лобової долі відзначається дещо більше виражений набряк, присутні явища дистрофії.

Слід зазначити, що дрібні судини кори цієї ділянки переважно повнокровні. У підкірці відзначається ділянка тканини, різко дистрофічна, аж до некробіозу і ішемічного некрозу, з утворенням дрібних кіст [Lee, Kim, 2008]. Також спостерігається виразний набряк, дист-