

## TOXIC EFFECTS OF NATURAL GAS ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE RATS' BRAIN

E.Y. Kalinina

**Abstract.** Using the methods of light microscopy, immunohistochemistry and electron microscopy, the morphological changes of the cerebral hemispheres of rats in subacute exposure to natural gas have been studied. The results reveal the basic mechanisms of intracellular and metabolic effects of natural gas in the cortex and white matter of the cerebral hemispheres and can explain the emergence of symptoms of encephalopathy.

**Key words:** domestic gas, poisoning, brain morphological changes.

State Medical Academy (Orenburg, Russia)

Рецензент – проф. І.С. Давиденко

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 59-62

Надійшла до редакції 30.10.2013 року

© Е.Ю. Калинина, 2013

УДК 616.24-002-097

*Н.А. Каспрук, Л.І. Сидорчук\*, С.А. Левицька\*, А.Ю. Михалко, А.С. Сидорчук\*,  
Н.М. Довбуш, К.І. Яковець\*, О.А. Іфтодій, Ю.Ф. Марчук\*, І.Й. Сидорчук\**

## ФАКТОРИ І МЕХАНІЗМИ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ПРОТИІНФЕКЦІЙНОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ХВОРИХ НА НЕГОСПІТАЛЬНУ ПНЕВМОНІЮ

Служба медичного забезпечення УМВС по Чернівецькій області

\*Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** У хворих на негоспітальну пневмонію понижені показники фагоцитарної активності моноцитів і нейтрофільних гранулоцитів, концентрації природних антитіл та активності системи комплементу. Секреторна активність фагоцитувальних клітин (моноцитів,

нейтрофілів) щодо секреції доімунних цитокінів підвищена.

**Ключові слова:** негоспітальна пневмонія, клітинні фактори природженого імунітету.

**Вступ.** Негоспітальна пневмонія (НП) – важлива медико-соціальна проблема, що характеризується ураженням нижніх відділів респіраторного тракту, високою захворюваністю, а також значними економічними витратами. В останні роки НП стає однією з основних причин летальності. Важлива роль у цьому проявляється при набутих імунодефіцитних станах, які характеризуються зниженням неспецифічного і специфічного імунного протиінфекційного захисту. При цьому в клінічній картині часто на передній план виступають тяжкі інфекційні ураження дихальних шляхів, які негативно впливають на функцію імунної системи [1, 4].

При постійному контакті респіраторного тракту з факторами навколишнього середовища значна роль належить захисним імунним механізмам. Поряд з імунними механізмами діють неспецифічні (природжені) фактори і механізми неспецифічного захисту. У ділянці верхніх дихальних шляхів особливе значення в протиінфекційному неспецифічному захисті має мукоциліарна система. У ділянці нижніх дихальних шляхів (альвеол і дрібних бронхів) провідна роль належить клітинам фагоцитарної системи. При фагоцитозі проходить деградація і розпад збудників запального процесу та елімінація складових компонентів

мікроба і транслокація їх макрофагами в ділянку мукоциліарної системи, де проходить заключна елімінація [1, 4].

Перераховане вище засвідчує про доцільність вивчення факторів і механізмів неспецифічного і специфічного імунного протиінфекційного захисту організму хворих на НП з метою вдосконалення патогенетичної лікувальної тактики.

**Мета дослідження.** Встановити стан клітинного неспецифічного протиінфекційного захисту організму хворих на НП III групи, фагоцитарної і секреторної активності нейтрофілів і моноцитів.

**Матеріал і методи.** Клінічне обстеження із залученням клінічно-лабораторних аналізів та інструментальних засобів виконане з вересня 2011р. по лютий 2013 р. у стаціонарному терапевтичному відділенні лікарні СМЗ УМВС по Чернівецькій області (начальник стаціонару – Н.А. Каспрук). У дослідження включали пацієнтів із НП III групи обох статей віком 25-34 роки, які перебували на стаціонарному лікуванні. Клінічно-лабораторне вивчення проведене у 51 пацієнта (43 чоловіки і 8 жінок). Середній вік хворих був 23,9±4,2 року. Контрольну групу склали 29 практично здорових осіб (21 чоловік і 8 жінок), середній вік – 28,8±3,3 року.

Популяцію нейтрофілів периферичної крові пацієнтів одержували за допомогою центрифугування на подвійному градієнті щільності 1,093 фікол-верографіну [6]. Моноцити із периферичної крові виділені за методом H.R.Recalde [5]. Життєздатність клітин у суспензії підтверджували в тесті із трипановим синім (вона становила 89-93 %).

Фагоцитарну активність нейтрофілів і моноцитів периферичної крові визначали чашечним методом [2]. Мазки висушували при кімнатній температурі, потім фіксували 10 хвилин в абсолютному метиловому спирті і забарвлювали за методом Гімзи-Романовського. Після забарвлення і висушування мазки вивчали у світловому мікроскопі в імersionній системі. Підраховували не менше 200 клітин. Вираховували фагоцитарну активність – відсоток фагоцитувальних клітин (нейтрофілів і моноцитів), фагоцитарне число – кількість поглинутих стафілококів на один фагоцитувальний нейтрофіл або моноцит.

Вміст цитокінів (інтерлейкінів 6,8, фактора некрозу пухлини альфа (ФНП- $\alpha$ ) та інтерферону-альфа (ІФН- $\alpha$ ) визначали у супернатантах клітин, одержаних після центрифугування, імуноферментним методом, використовуючи тест-системи виробництва фірми R&D System (США).

Для встановлення інформативності змін імунологічних показників у хворих на НП визначали ступінь імунних порушень (СП) кожного показника за формулою:  $СП = (\text{Показник пацієнта} / \text{Показник контролю} - 1) * 100$ . За наявності імунної недостатності показник був негативним числом, значення показника зі знаком плюс свідчило про гіперфункцію протиінфекційного захисту [3].

Одержані результати опрацьовані методом варіаційної статистики з визначенням середньої арифметичної (M), похибки середньої ( $\pm m$ ), достовірності різниці ознак за критерієм Стьюдента.

Статистичну обробку виконували на комп'ютері IBM Pentium-IV, пакетом Microsoft Excel Professional for Windows XP і програмою Stat Plus Professional 2009.

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Для формування ефективної специфічної імунної відповіді потрібно від трьох до п'яти діб від моменту інфікування організму. Цей період є більш ніж достатнім для проліферації патогену і системного пошкодження організму. У зв'язку із вищезазначеним існують доімунні механізми протиінфекційного захисту, які називають природженим імунітетом (неспецифічний, природжений протиінфекційний захист). До компонентів системи природженого імунітету належать клітинні і гуморальні фактори. Клітинні фактори неспецифічного протиінфекційного захисту представлені моноцитами, макрофагами, еозинофілами, базофілами, О-лімфоцитами (природженими кілерами, К-клітинами, ЛАК-клітинами) та ін. Тому першим етапом було вивчення абсолютної і відносної кількості лейкоцитів (нейтрофілів, еозинофілів, базофілів), О-лімфоцитів, природних кілерів (NK) і моноцитів (табл. 1).

Показано, що у хворих на НП підвищується відносна кількість паличкоядерних нейтрофілів на 50,27 % і зменшується абсолютна (на 54,03 %) і відносна (на 59,19 %) кількість моноцитів та, що важливо, знижується коефіцієнт NK/О-лімфоцити на 25,95 %. Крім того, формується тенденція до збільшення абсолютної (на 26,92 %) і відносної кількості О-лімфоцитів, а також тенденція до зниження відносної кількості природних кілерів на 15,37 %, загального пулу відносної кількості нейтрофілів на 4,61 % за рахунок зниження відносної кількості сегментоядерних поліморфноядерних лейкоцитів на 9,71 %.

Таким чином, у хворих на НП суттєво зменшується абсолютна і відносна кількість моноци-

Таблиця 1

#### Стан клітинного неспецифічного протиінфекційного захисту організму хворих на негоспітальну пневмонію

Показники	Одиниці вимірювання	Хворі на негоспітальну пневмонію (n=51) M $\pm$ m	Контроль (практично здорові люди) (n=29) M $\pm$ m	Ступінь імунних порушень	P
О-лімфоцити	%	15,82 $\pm$ 0,17	14,49 $\pm$ 0,15	I	>0,05
	*10 <sup>9</sup> /л	0,33 $\pm$ 0,03	0,26 $\pm$ 0,02	I	>0,05
Природні кілери (NK)	%	12,04 $\pm$ 0,11	13,89 $\pm$ 0,12	I	>0,05
	*10 <sup>9</sup> /л	0,25 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,02	-	-
Коефіцієнт NK/О-лімфоцити	у.о.	76,11 $\pm$ 2,41	95,86 $\pm$ 2,52	I	<0,01
Нейтрофільні лейкоцити	%	57,10 $\pm$ 1,78	59,73 $\pm$ 1,37	I	>0,05
- паличкоядерні	%	5,50 $\pm$ 0,21	3,66 $\pm$ 0,19	II	<0,05
- сегментоядерні	%	51,60 $\pm$ 2,08	56,61 $\pm$ 2,11	I	>0,05
Моноцити	%	6,20 $\pm$ 0,21	9,87 $\pm$ 0,24	II	<0,01
	*10 <sup>9</sup> /л	0,37 $\pm$ 0,07	0,57 $\pm$ 0,09	II	<0,05

Таблиця 2

**Фагоцитарна активність нейтрофілів і моноцитів периферичної крові хворих на негоспітальну пневмонію**

Показники	Одиниці	Хворі на негоспітальну пневмонію (n=51) M±m	Контроль (практично здорові люди) (n=29) M±m	Ступінь імунних порушень	P
Фагоцитарна активність нейтрофілів	%	50,97±1,47	81,32±2,71	II	<0,01
Фагоцитарне число нейтрофілів	од.	4,63±0,14	7,62±0,08	II	<0,001
Фагоцитарна активність моноцитів	%	52,43±1,62	79,73±2,47	II	<0,01
Фагоцитарне число моноцитів	од.	5,27±0,16	8,62±0,32	II	<0,01
НСТ-спонтанний	%	9,71±0,42	14,21±0,21	I	<0,01
НСТ-стимульований	%	23,73±0,87	37,41±0,82	II	<0,001
Потенційна бактерицидна активність фагоцитувальних клітин	%	14,02±0,65	23,20±0,52	II	<0,001
Коефіцієнт активності фагоцитозу	од.	2,44±0,17	2,63±0,21	I	>0,05
Титр природних антитіл	сгп	4,01±0,21	6,17±0,11	II	<0,01
Активність системи комплементу	мг	0,08±0,01	0,02±0,01	III	<0,01
Імунологічний коефіцієнт	%	18,28±0,21	22,78±0,32	III	<0,001

Таблиця 3

**Секреторна активність фагоцитувальних клітин периферичної крові хворих на негоспітальну пневмонію**

Цитокіни	Одиниці	Хворі на негоспітальну пневмонію (n=51) M±m	Контроль (практично здорові люди) (n=29) M±m	Ступінь імунних порушень	P
Секреторна здатність моноцитів					
Інтерлейкін - 1β	пг/мл	22,11±0,94	15,87±0,59	II	<0,01
Інтерлейкін - 6	пг/мл	7,41±0,33	4,81±0,22	II	<0,01
Інтерлейкін - 8	пг/мл	4,61±0,16	3,27±0,12	II	<0,05
Фактор некрозу пухлин - α	пг/мл	9,12±0,39	6,57±0,19	II	<0,01
Інтерферон - α	пг/мл	9,44±0,43	8,34±0,31	I	<0,05
Секреторна здатність нейтрофілів					
Інтерлейкін - 6	пг/мл	4,95±0,21	3,37±0,11	II	<0,01
Інтерлейкін - 8	пг/мл	4,21±0,17	2,64±0,10	II	<0,01
Фактор некрозу пухлин - α	пг/мл	6,08±0,22	4,37±0,19	II	<0,01
Інтерферон - α	пг/мл	5,78±0,21	5,28±0,21	I	>0,05

тів, знижується коефіцієнт NK/O-лімфоцити, зростає відносна кількість паличкоядерних нейтрофілів, формується тенденція до збільшення абсолютної і відносної кількості O-лімфоцитів та тенденція до зниження відносної кількості природних кілерів і нейтрофілів, у тому числі сегментоядерних.

Суттєві зміни абсолютної і відносної кількості моноцитарно-макрофагальної системи, а також нейтрофільних гранулоцитів засвідчують про порушення процесів безпосереднього захисту організму від генетично чужорідних агентів та запуску і регуляції механізмів імунної відповіді, що побудило нас до вивчення фагоцитувальної активності нейтрофілів і моноцитів у змішаній

культури. Результати вивчення фагоцитарної активності нейтрофілів і моноцитів периферичної крові хворих на НП наведені у таблиці 2.

У хворих на НП суттєво ( $p < 0,01-0,001$ ) знижувалась фагоцитарна активність нейтрофілів на 59,54 % і моноцитів – на 52,07 %, а також їх бактерицидна активність на 46,34 %. Зменшувалось фагоцитарне число у нейтрофілів на 64,58 %, у моноцитів – на 63,57 %, що, з нашої точки зору, зумовлено порушенням опсонізації *S.aureus* за рахунок зниження титру природних (нормальних) антитіл на 53,87 % та зниження активності системи комплементу в 4 рази.

Характерним було також пониження на 57,65 % стимульованої бактерицидної активності фагоцитувальних клітин, що призводить до суттєвого зниження потенційної бактерицидності фагоцитувальних клітин на 65,48 %. Незважаючи на суттєві порушення механізмів фагоцитозу, як на початковому етапі, так і на заключній фазі фагоцитозу, коефіцієнт активності фагоцитозу мав тільки тенденцію до зниження (на 7,79 %). Різностямовані глибокі порушення фагоцитарної активності нейтрофільних поліморфноядерних лейкоцитів та, особливо, моноцитарно-макрофагальної системи протиінфекційного захисту призводив до зниження імунологічного коефіцієнта на 24,34 %.

Таким чином, у хворих на НП при надходженні настають глибокі порушення показників (фагоцитарної активності, показника фагоцитозу, бактерицидної активності), фагоцитозу в поліморфноядерних гранулоцитів і моноцитарно-макрофагальної системи. Показники фагоцитозу нейтрофілів і моноцитів понижені на перших і заключних етапах фагоцитозу, чому сприяє зниження титру природних антитіл і активності системи комплементу.

Як моноцити, так і нейтрофіли проявляють не тільки захисну (фагоцитоз) функцію, їм притаманна секреторна активність. Активовані моноцити і нейтрофіли синтезують комплекс так званих доімунних цитокінів, до яких відносяться інтерлейкін 1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ), інтерлейкін 6 (ІЛ-6), інтерлейкін 8 (ІЛ-8), фактор некрозу пухлин – альфа (ФНП- $\alpha$ ), які залучають до виконання функцій та активують імунокомпетентні клітини, готуючи їх до розпізнання мікроба і формування специфічної імунної відповіді. Тому нами вивчена секреторна активність моноцитів і нейтрофілів. Результати дослідження наведені в таблиці 3.

Формування та розвиток НП призводить до порушень не тільки клітинної ланки неспецифічного протиінфекційного захисту, а також впливає на секреторну активність моноцитів і нейтрофілів, і ці порушення відносяться, в основному, до II ступеня. Активовані збудниками запального процесу моноцити посилюють секреторну активність щодо синтезу і продукції прозапальних цитокінів. Концентрація ІЛ-1 $\beta$  зростає на 39,32 %, ІЛ-6 – на 54,05 %, ІЛ-8 – на 40,98 %, ФНП- $\alpha$  – на 38,81 % та ІФН- $\alpha$  – на 13,19 %.

Під впливом збудників запального процесу в нейтрофільних гранулоцитів зростає секреторна активність щодо продукції прозапальних доімунних цитокінів – ІЛ-6 на 46,88 %, ІЛ-8 – на 59,47 %, ФНП- $\alpha$  – на 39,13 %, ІФН- $\gamma$  – на 9,47 %.

Таким чином, антигенна стимуляція моноцитів і нейтрофілів призводить до підвищеної секреції цитокінів першого покоління (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 та ін.), які індукують біосинтез ІЛ-2, що виступає як центральний регуляторний цитокін, а також інтерлейкінів – 3,4,5 та гамма-інтерферону (ІФН- $\gamma$ ) – цитокінів другого покоління. Останні здійснюють коригувальний вплив на біосинтез ранніх цитокінів. Такий принцип взаємодії цитокінів першого і другого покоління дозволяє залучати до формування імунної відповіді постійно зростаючу кількість імунокомпетентних клітин. Зростання концентрацій доімунних цитокінів слід розглядати як початок формування клітинної і гуморальної відповіді на антигени збудників НП та можливість передбачити позитивний прогноз у лікуванні хворих.

### Висновки

1. У хворих на негоспітальну пневмонію порушуються процеси безпосереднього неспецифічного протиінфекційного захисту організму за рахунок суттєвого зменшення абсолютної і відносної кількості моноцитарно-макрофагальної системи, що є свідченням запуску, регуляції і формування специфічної імунної відповіді.

2. Порушення механізмів неспецифічного протиінфекційного захисту організму хворих на негоспітальну пневмонію пов'язане зі зниженням показників фагоцитозу – фагоцитарної активності, фагоцитарного індексу, бактерицидної активності моноцитів і нейтрофільних гранулоцитів, а також зниження потенційної бактерицидної активності фагоцитувальних клітин, активності системи комплементу і титру нормальних (природних) антитіл.

3. Активовані моноцити і поліморфноядерні нейтрофільні лейкоцити посилюють секреторну активність щодо секреції цитокінів першого (доімунних) покоління (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6,8 і ФНП- $\alpha$ ).

**Перспективи подальших досліджень.** Одержані і наведені результати досліджень є підставою до вивчення факторів і механізмів адаптивного імунітету у хворих на негоспітальні пневмонії, а також дають можливість використання даних при проведенні імунореабілітації.

### Література

1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник. – К., 2010. – 552 с.
2. Дучас С.Д. Исследование фагоцитоза в клинической практике: Пер. с англ. / С.Д. Дучас, П.Г. Кун. – М.: Медицина, 1983. – С. 63-64, 87-88.
3. Немедикаментозная иммунокоррекция / А.М. Земсков, В.М. Земсков, Д.В. Сергеев, А.В. Караулов. – М.: Национальная академия микологии, 2002. – 264 с.
4. Harvey R.A. Immunology / R.A. Harvey, P.C. Champe. – New Delhi – Philadelphia – Baltimore – New York – London – Buenos Aires – Hong Kong – Sydney – Tokyo: Lippincott Williams and Wilkins, 2008. – P. 165-328.

5. Recalde H.R. A simple method of obtaining monocytes in suspension / H.R. Recalde // J. Immunological Methods. – 1994. – Vol. 69. – P. 71-77.
6. Wong L. The identification of Fc and C3 receptors on human neutrophils / L. Wong, R.D. Wilson // J. Immunological Methods. – 1975. – Vol. 7. – P. 69-76.

### ФАКТОРЫ И МЕХАНИЗМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА БОЛЬНЫХ НЕГОСПИТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

*Н.А. Каспрук, Л.И. Сидорчук, С.А. Левицкая, А.Ю. Михалко, А.С. Сидорчук, Н.М. Довбуш, К.И. Яковец, О.А. Ифтодий, Ю.Ф. Марчук, И.Й. Сидорчук*

**Резюме.** У больных внегоспитальной пневмонией снижены показатели фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов, концентрации естественных антител и активности системы комплемента. Секреторная активность фагоцитирующих клеток (моноцитов, нейтрофилов) относительно секреции доиммунных цитокинов повышена.

**Ключевые слова:** внегоспитальная пневмония, клеточные факторы врожденного иммунитета.

### THE FACTORS AND MECHANISMS OF NON-SPECIFIC ANTI-INFECTIOUS DEFENCE OF THE ORGANISM OF PATIENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

*N.A. Kaspruk, L.I. Sydorчук\*, S.A. Levytska\*, A.Yu. Mikhalko, A.S. Sydorчук\*, N.M. Dovbush, K.I. Yakovets\*, O.A. Iftodii, Yu.F. Marchuk\*, I.Y. Sydorчук\**

**Abstract.** The indices of the phagocytic activity of macrophages and neutrophils, the level of natural antibodies and the activity of the complement system are decreased in patients with community-acquired pneumonia. The secretory activity of phagocytes (monocytes, neutrophils) as to the secretion of the pre-immune cytokines was increased.

**Key words:** community-acquired pneumonia, cellular factors of congenital immunity.

The Service of Medical Provision of AMIA of the Chernivtsi Region  
\*Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. О.И. Волошин

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 62-66

Надійшла до редакції 14.05.2013 року

© Н.А. Каспрук, Л.И. Сидорчук, С.А. Левицкая, А.Ю. Михалко, А.С. Сидорчук, Н.М. Довбуш, К.И. Яковец, О.А. Ифтодий, Ю.Ф. Марчук, И.Й. Сидорчук, 2013

УДК 616.921.8-053.3-085.233

*Т.А. Кирсанова, С.В. Кузнецов, Л.В. Мушенко, М.С. Зимина*

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ L- КЛОПЕРАСТИНА ФЕНДИЗОАТА В ЛЕЧЕНИИ КОКЛЮША У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Харьковский национальный медицинский университет

**Резюме.** В статье представлены результаты исследования показателей системного и местного иммунитета детей, больных коклюшем. Приведена клинико-иммунологическая оценка эффективности противокашлевых препаратов, действующим веществом которых является L-клоперастин фендизоат. Клиническая картина коклюша характеризуется незначительными симптомами интоксикации, наличием приступообразного кашля, чаще в ночное время суток, заканчивающийся отхождением вязкой мокроты, рвотой, иногда с репризами, коробочным оттенком легочного звука, жестким дыханием, наличием проводных или сухих свистящих хрипов. В периферической крови больных детей выявляется лейкоцитоз, лимфоцитоз, ускоренная СОЭ. В

острый период отмечается увеличение содержания цитокинов, снижение уровня субпопуляций лимфоцитов CD3<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> на фоне физиологического уровня CD8<sup>+</sup> и CD19<sup>+</sup>, а также угнетения факторов местного иммунитета. Более быстрое купирование клинических проявлений коклюша при использовании в комплексной терапии препаратов, содержащих L- клоперастин фендизоат, вероятнее всего, происходит за счет более ранней нормализации показателей цитокинового статуса, уровня субпопуляций лимфоцитов и факторов местного иммунитета.

**Ключевые слова:** коклюш, дети, клиническая картина, иммунитет, терапия.

**Введение.** До настоящего времени регистрируется высокая заболеваемость коклюшем среди детей раннего возраста [3]. Для современного коклюша по-прежнему характерны периодичес-

кие подъемы заболеваемости, хотя и с меньшей степенью интенсивности [1,4]. Несмотря на огромные успехи в лечении коклюша, до сих пор многие вопросы терапии остаются дискуссионными.

© Т.А. Кирсанова, С.В. Кузнецов, Л.В. Мушенко, М.С. Зимина, 2013