

Теоретична і експериментальна медицина

УДК: 616-002.2-02:547.458.1:616-002-008.953]-085.273.53-092.9

**ЛЕЙКОЦИТАРНА РЕАКЦІЯ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ
ЗА ВТОРИННО ХРОНІЧНОГО КАРАГІНАНОВОГО ЗАПАЛЕННЯ
НА ТЛІ ВВЕДЕННЯ БЛОКАТОРА ТРОМБІНУ
ДАБІГАТРАНУ ЕТЕКСИЛАТУ****Шевченко В.О.***Харківський національний медичний університет, Харків, Україна*

Експериментальне дослідження було проведено на 72 дорослих самцях лабораторних шурів лінії WAG, масою 180–200 г. Контролем для природного перебігу запалення слугували інтактні щури, а контролем для запалення на тлі введення дабігатрану етексилату – щури, яким вводили препарат без подальшого викликання хронічного запалення. Моделлю запалення було карагінанове вторинно хронічне асептичне запалення, яке викликалося шляхом внутрішньом'язового введення в ділянку правого стегна 10 мг λ -карагінану (Sigma, США), розчиненого в 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. Дабігатрану етексилат вводили внутрішньошлунково через зонд у дозі 15 мг/кг/добу, розчиненим в 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду щодня протягом усього експерименту, який тривав 28 діб. Встановлено, що застосування блокатора тромбіну дабігатрану етексилату, в порівнянні з природним перебігом вторинно хронічного карагінанового запалення, сприяє залученню лейкоцитів на 14-ту добу, що приводить до більшої елімінації флогогену в цей період, а зменшення кількості лейкоцитів на 21-шу і 28-му доби в період хронізації запалення, що свідчить про зниження потреби в лейкоцитах у ці терміни. Тенденція збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів у 1,3 раза на 28-му добу запалення на тлі введення дабігатрану етексилату, в порівнянні з природним перебігом запалення, свідчить про менш виражену еміграцію лейкоцитів у вогнище у зв'язку зі зниженням інтенсивності хронічного запалення. Зменшення кількості паличкоядерних нейтрофілів у периферичній крові на 28-му добу може бути пов'язане зі зниженням їх еміграції у вогнище запалення. Достовірне зменшення кількості моноцитів у 1,62 рази ($p < 0,01$) на 28-му добу свідчить про те, що застосування блокатора тромбіну дабігатрану етексилату знижує адгезію лейкоцитів і зменшує хронізацію запалення.

Ключові слова: запалення, лейкоцити, периферична кров, тромбін.



Цитуйте українською: Шевченко ВО. Лейкоцитарна реакція периферичної крові за вторинно хронічного карагінанового запалення на тлі введення блокатора тромбіну дабігатрану етексилату.

Медицина сьогодні і завтра. 2023;92(4):6-16.

<https://doi.org/10.35339/msz.2023.92.4.shv>

Cite in English: Shevchenko VO. Leukocyte reaction of peripheral blood in secondary chronic carrageenan inflammation after administration of the thrombin blocker dabigatran etexilate.

Medicine Today and Tomorrow. 2023;92(4):6-16.

<https://doi.org/10.35339/msz.2023.92.4.shv> [in Ukrainian].

Вступ

Запалення – це реакція системи крові на патогени, пошкоджені клітини, токсичні сполуки або опромінення, яка діє шляхом усунення шкідливих подразників та ініціювання процесу загоєння та є життєво важливим для здоров'я захисним механізмом [1–3]. Зазвичай, під час гострої запальної реакції клітинні та молекулярні механізми ефективно мінімізують травму або інфекцію. Цей процес сприяє відновленню гомеостазу тканин і вирішенню гострого запалення. Однак неконтрольоване гостре запалення може стати хронічним, сприяючи розвитку різноманітних хронічних запальних захворювань [4].

Запальна відповідь – це активація сигнальних шляхів, які регулюють рівні медіаторів запалення в резидентних клітинах тканин і запальних клітинах, рекрутованих з крові [5]. Запальна реакція включає в себе висококоординовану мережу багатьох типів клітин. Активовані макрофаги, моноцити та інші клітини опосередковують місцеві реакції на пошкодження тканин та інфекцію. У місцях пошкодження тканин пошкоджені епітеліальні та ендотеліальні клітини вивільняють фактори, що запускають запальний каскад, а також хемокіни та фактори росту, які приваблюють нейтрофіли та моноцити. Першими клітинами, які притягуються до місця пошкодження, є нейтрофіли, за ними йдуть моноцити, лімфоцити (природні кілери (NK-клітини), Т-лімфоцити і В-лімфоцити) і тучні клітини [6–8]. Моноцити можуть диференціюватися в макрофаги та дендритні клітини, і рекрутуються через хемотаксис у пошкоджені тканини. Опосередковані запаленням зміни імунних клітин пов'язані з багатьма захворюваннями, в тому числі астмою, раком, хронічними запальними, аутоімунними та дегенеративними захворюваннями, атеросклерозом, діабетом.

Нейтрофіли, які є мішенню для мікроорганізмів, також можуть пошкоджувати клітини і тканини [9]. Нейтрофіли є ключовими медіаторами запальної відповіді і програмують антигенпрезентуючі клітини активувати Т-лімфоцити та вивільняти локалізовані фактори для залучення моноцитів, а також дендритні клітини [10]. Макрофаги є важливими компонентами системи мононуклеарних фагоцитів і відіграють вирішальну роль в ініціації, підтримці та вирішенні запалення [11]. Під час запалення макрофаги презентують антигени, піддаються фагоцитозу і модулюють імунну відповідь, з виробленням цитокінів та факторів росту. Тучні клітини, які знаходяться в сполучнотканинних матриксах і на епітеліальних поверхнях, є ефекторними клітинами, що ініціюють запальні реакції. Активовані тучні клітини вивільняють різноманітні медіатори запалення, у тому числі цитокіни, хемокіни, гістамін, протеази, простагландини, лейкотрієни та сергліцинові протеоглікани [12; 13].

Щоб запобігти прогресуванню гострого запалення в персистуюче, хронічне запалення, запальну реакцію необхідно придушити, що також дозволить запобігти додатковому пошкодженню тканин. Усунення запалення є керованим процесом, що включає контрольоване в просторі та часі вироблення медіаторів, під час якого градієнти хемокінів з часом розбавляються. Циркулюючі лейкоцити з часом перестають відчувати ці градієнти і не рекрутуються до місць пошкодження. Дисрегуляція цього процесу може призвести до неконтрольованого хронічного запалення [14]. Процеси розсмоктування запалення, які відновлюють тканинний гомеостаз, включають зменшення або припинення інфільтрації тканин нейтрофілами та апоптоз відпрацьованих нейтрофілів, контррегуляцію хемо-

кінів і цитокінів, трансформацію макрофагів з класично активованих клітин в альтернативно активовані, а також ініціацію загоєння [15; 16].

Хронічне запалення виникає, коли гострі запальні механізми не в змозі усунути пошкодження тканин. Це запалення може призвести до багатьох захворювань, таких як серцево-судинні захворювання, атеросклероз, діабет 2 типу, ревматоїдний артрит та рак [17; 18]. Розуміння загальних механізмів, які спричиняють дисфункцію різних систем органів у разі виникнення запалення, дозволить розробити та впровадити більш ефективні принципи лікування, а також розширити знання про механізми хронізації запалення.

Мета

З'ясувати особливості лейкоцитарної реакції периферичної крові за вторинно хронічного карагінанового запалення на тлі введення блокатора тромбіну дабігатрану етексилату.

Матеріали та методи

Експериментальне дослідження було проведено на 72 дорослих самцях лабораторних щурів лінії WAG, масою 180–200 г, вирощених у віварії Харківського національного медичного університету. Дослідження було проведено з дотриманням вказівок Директиви Європарламенту та Ради Європи 2010/63/EU «Про захист тварин, які використовуються в наукових цілях».

Контролем для природного перебігу запалення слугували інтактні щури, а контролем для запалення на тлі введення дабігатрану етексилату – щури, яким вводили препарат без подальшого викликання хронічного запалення.

Моделлю запалення було караганове вторинно хронічне асептичне запалення, яке викликалося шляхом внут-

рішньом'язового введення в ділянку правого стегна 10 мг λ -карагінану (Sigma, США), розчиненого в 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду [19].

Дабігатрану етексилат вводили внутрішньошлунково через зонд у дозі 15 мг/кг/добу, розчиненим в 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду щодня протягом усього експерименту, який тривав 28 днів [20; 21].

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під наркозом тіопенталом натрію (Тіопенат, 1 г флакон, БРОВАФАРМА, Україна). 1 г препарату розводили в 10 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. У шприц набирали 1 мл розчиненого тіопенталу натрію із флакону та розводили його 3 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. Препарат вводили внутрішньоочеревинно у дозі 40–50 мг/кг на 1-шу, 7-му, 14-ту, 21-шу і 28-му доби проведення експерименту [22; 23].

Досліджували лейкоцитарну реакцію периферичної крові на 1-шу, 7-му, 14-ту, 21-шу і 28-му добу проведення експерименту.

Дослідження лейкоцитарної реакції крові проводили на гематологічному аналізаторі ABX Micros 60 C+ (Horiba, Франція).

Ведення банку даних здійснювали за допомогою програми "Microsoft Excel 2019" (США), а для їх статистичного опрацювання використовували "RStudio Desktop" (США). Статистичне опрацювання даних передбачало розрахунок середнього арифметичного (M) для опису центральної закономірності, стандартної похибки середнього (m) для характеризування варіативності ознаки, та визначення статистичної значущості різниці, використовуючи t-тест Стьюдента [24]. При значеннях $p \leq 0,05$ різницю розцінювали як статистично значущу.

Результати

За природного перебігу запалення загальна кількість лейкоцитів (ЗКЛ) у крові в динаміці вторинно хронічного карагінанового запалення змінювалась хвилеподібно (табл. 1). На 1-шу добу в порівнянні з контролем спостерігалась тенденція підвищення ЗКЛ в 1,4 раза, на 7-му добу їх кількість зменшувалась в 1,1 раза, а з 14-ої доби до завершення експерименту спостерігалась тенденція підвищення їх кількості у порівнянні з контролем відповідно в 1,4 раза, в 1,2 раза, та в 1,4 раза. На 1-шу добу спостерігалось достовірне підвищення ЗКЛ в порівнян-

ні з 7-ою добою, перевищуючи їх в 1,5 раза ($p < 0,05$). На 14-ту добу також спостерігалось достовірне підвищення ЗКЛ в порівнянні із 7-ою добою, перевищуючи їх в 1,5 раза ($p < 0,05$), що пов'язано, напевно, з активацією кровотворення, тому в цей період є характерним лейкоцитоз, який спостерігався до завершення експерименту. Таким чином, на 1-шу добу запалення розвивався лейкоцитоз, а в подальшому ЗКЛ змінювалась хвилеподібно. Лейкоцитоз на 1-шу добу пов'язаний з активацією гемопоезу, а на 14-ту та 28-му добу з повторним посиленням гемопоезу.

Таблиця 1. Лейкоцитарна реакція периферичної крові щурів (абсолютне число клітин, $\times 10^9/л$) у динаміці природнього перебігу карагінанового вторинно хронічного запалення, ($M \pm m$, $n=6$)

	Загальна кількість лейкоцитів	Еозинофіли	Нейтрофіли паличкоядерні	Нейтрофіли сегментоядерні	Лімфоцити	Моноцити
Конт- роль	7,033± ±1,238	0,099± ±0,016	0,125± ±0,028	2,736± ±0,699	3,685± ±0,807	0,388± ±0,078
1-ша доба	9,767± ±0,191	0,098± ±0,002	0,131± ±0,021	3,038± ±0,434	6,013± ±0,452*	0,488± ±0,037
7-а доба	6,550± ±1,070^	0,066± ±0,011^	0,066± ±0,011^	0,539± ±0,052*^^	5,045± ±0,946	0,834± ±0,111*^
14-та доба	9,817± ±0,467^	0,098± ±0,005^	0,145± ±0,020^	2,322± ±0,093^^	6,426± ±0,393*	0,826± ±0,055*
21-ша доба	8,317± ±1,141	0,083± ±0,011	0,135± ±0,024	2,915± ±0,349	4,460± ±0,912^	0,724± ±0,063*^
28-а доба	9,983± ±0,247	0,100± ±0,002	0,100± ±0,002	3,625± ±0,435	5,193± ±0,486	0,966± ±0,096*

Примітки: * – статистична значущість різниці 95,00 % ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем;
 ** – статистична значущість різниці 99,00 % ($p \leq 0,01$) порівняно з контролем;
 *** – статистична значущість різниці 99,90 % ($p \leq 0,001$) порівняно з контролем;
 ^ – статистична значущість різниці 95,00 % ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім терміном;
 ^^ – статистична значущість різниці 99,00 % ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном;
 ^^ – статистична значущість різниці 99,90 % ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном.

За природного перебігу запалення на 1-шу добу спостерігався нейтрофільний лейкоцитоз, незважаючи на інтенсивну еміграцію нейтрофілів у вогнище запалення, що свідчило про переважання надходження нейтрофілів із кісткового мозку в кров над їх еміграцією із крові у вогнище. Це, напевно, відбувалось за рахунок посиленого вимивання зрілих лейкоцитів із кістковомозкового постмітотичного резервного шляху, що мабуть, обумовлене прискоренням кровотоку в кістковому мозку завдяки системним проявам запалення, викликаним впливом цитокінів, які посилено продукуються активованими лейкоцитами вогнища і периферичної крові [9–12].

На 7-му добу спостерігали достовірне зменшення кількості сегментоядерних нейтрофілів у периферичній крові, як в порівнянні з контролем, так і попереднім терміном, відповідно в 5,1 раза ($p < 0,05$) і в 5,7 раза ($p < 0,01$). Це зменшення, мабуть, пов'язане з активним виходом нейтрофілів у вогнище запалення. На 14-ту добу спостерігали достовірне підвищення кількості сегментоядерних нейтрофілів в порівнянні з 7-ою добою в 4,3 раза ($p < 0,001$). На 21-шу і 28-му доби спостерігали тенденцію збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів у порівнянні з контролем, що співпадає з динамікою ЗКЛ, що також свідчить про хронізацію запалення.

За природного перебігу запалення кількість паличкоядерних нейтрофілів у периферичній крові коливалась хвилеподібно. Спостерігалась тенденція до підвищення їх на 1-шу добу; на 7-му добу спостерігалось їх достовірне зменшення у порівнянні з 1-ою добою в 1,9 раза ($p < 0,05$); а потім достовірне підвищення на 14-ту добу в 2,4 раза ($p < 0,05$), що відповідало динаміці ЗКЛ. До завершення експерименту кількість їх зменшувалась в порівнянні з контролем.

За природного перебігу запалення спостерігалась тенденція зменшення еозинофілів на 7-му добу в порівнянні з контролем, а також достовірне зменшення в порівнянні з 1-ою добою в 1,5 раза ($p < 0,05$). На 14-ту добу кількість еозинофілів наближалась до контролю, але достовірно перевищувала їх кількість у порівнянні з 7-ою добою також в 1,5 раза ($p < 0,05$). Ці зміни схожі зі змінами ЗКЛ і відображають переважання еміграції клітин над надходженням їх з кісткового мозку в периферичну кров спочатку у зв'язку з гострим періодом запалення, а потім пов'язані з хронізацією процесу.

За природного перебігу запалення з боку кількості моноцитів крові спостерігалось достовірне збільшення їх на 7-му, 14-ту, 21-шу та 28-му добу в порівнянні з контролем, відповідно в 2,1 раза ($p < 0,05$), в 2,1 раза ($p < 0,05$), в 1,9 раза ($p < 0,05$), і в 2,5 раза ($p < 0,05$). Кількість моноцитів протягом експерименту змінювалась хвилеподібно: на 7-му добу достовірно збільшувалась в 1,7 раза ($p < 0,05$), в порівнянні з 1-ою добою, а на 21-шу добу достовірно зменшувалась у порівнянні з 14-ою добою в 1,1 раза ($p < 0,05$). Збільшення кількості моноцитів пов'язане з посиленням лейкопоезу, а повторна еміграція моноцитів і активація лейкопоезу відображає хронізацію запалення [6–8].

За природного перебігу запалення з боку кількості лімфоцитів відбувалось їх достовірне підвищення на 1-шу та 14-ту доби, відповідно в 1,7 раза ($p < 0,05$) та в 1,7 раза також ($p < 0,05$). Достовірне їх зменшення спостерігалось на 21-шу добу в порівнянні з 14-ою добою в 1,4 раза ($p < 0,05$). Також спостерігалась тенденція до збільшення кількості лімфоцитів на 28-му добу в порівнянні з контролем в 1,4 раза ($p < 0,05$). Зазначені коливання кількості

лімфоцитів свідчать про посилення еміграції у вогнище і активацію лімфоцитопоезу у зв'язку з хронізацією запалення [6–8].

За вторинно хронічного карагінанового запалення на тлі введення дабігатрану етексилату спостерігалось достовірне підвищення ЗКЛ протягом усього експерименту з піком підвищення ЗКЛ на 14-ту добу, перевищуючи контроль у 2,3 рази ($p < 0,01$). На 1-шу і 7-му доби спостерігалось достовірне підвищення ЗКЛ, з перевищенням показників групи контролю в 1,8 рази ($p < 0,01$) і в 1,4 рази ($p < 0,05$) відповідно. На 21-шу і 28-му доби ЗКЛ достовірно перевищувала показники групи контролю в 1,7 рази ($p < 0,05$) і в 1,9 рази ($p < 0,01$). Також протягом всього експерименту ми спостерігали хвилеподібні зміни їх кількості з максимумом на 14-ту добу та 28-му

добу, з перевищенням ЗКЛ у попередні терміни відповідно в 1,6 рази ($p < 0,05$) і в 1,2 рази ($p < 0,05$), що свідчить про зменшення хронізації запалення.

За запалення на тлі застосування дабігатрану етексилату порівняно з природним перебігом запалення на 14-ту добу спостерігалась тенденція збільшення ЗКЛ у 1,2 рази, а на 21-шу і 28-му доби показники ЗКЛ не відрізнялись між собою (табл. 2). Посилене залучення лейкоцитів на 14-ту добу, мабуть, приводить до більшої елімінації флогогену в цей період, а зменшення кількості лейкоцитів на 21-шу і 28-му доби в період хронізації запалення свідчить, можливо, про зниження потреби лейкоцитів у ці терміни, що пов'язано з впливом дабігатрану етексилату на перебіг хронічного запалення.

Таблиця 2. Лейкоцитарна реакція периферичної крові щурів (абсолютне число клітин, $\times 10^9/л$) у динаміці карагінанового вторинно хронічного запалення на тлі введення дабігатрану етексилату, ($M \pm m$, $n=6$)

	Загальна кількість лейкоцитів	Еозинофіли	Нейтрофіли паличкоядерні	Нейтрофіли сегментоядерні	Лімфоцити	Моноцити
Контроль	5,050 \pm $\pm 0,286$	0,051 \pm $\pm 0,003^\circ$	0,058 \pm $\pm 0,007$	1,474 \pm $\pm 0,180$	2,856 \pm $\pm 0,248$	0,611 \pm $\pm 0,068$
1-ша доба	9,067 \pm $\pm 0,981^{**}$	0,091 \pm $\pm 0,010^{**}$	0,114 \pm $\pm 0,011^*$	3,356 \pm $\pm 0,504^{**}$	5,131 \pm $\pm 0,455^*$	0,375 \pm $\pm 0,029^{**}$
7-а доба	7,250 \pm $\pm 0,596^*$	0,073 \pm $\pm 0,006^*$	0,073 \pm $\pm 0,006^\wedge$	0,478 \pm 0,045 $^{**\wedge\wedge^\circ}$	5,637 \pm $\pm 0,532^*$	0,991 \pm $\pm 0,024^{**\wedge\wedge\wedge}$
14-та доба	11,550 \pm $\pm 1,083^{**\wedge}$	0,116 \pm $\pm 0,011^{**\wedge}$	0,165 \pm $\pm 0,042$	5,477 \pm $\pm 0,488^{**\wedge\wedge\wedge\circ}$	4,768 \pm $\pm 0,839^*$	1,025 \pm $\pm 0,075^*$
21-ша доба	8,450 \pm $\pm 0,704^*$	0,085 \pm $\pm 0,007^*$	0,096 \pm $\pm 0,011^*$	2,177 \pm $\pm 0,141^{**\wedge\wedge}$	5,311 \pm $\pm 0,735^*$	0,781 \pm $\pm 0,047$
28-а доба	$\pm 9,817 \pm$ 0,636 $^{**\wedge}$	0,098 \pm $\pm 0,006^{**\wedge}$	0,098 \pm $\pm 0,006^{**}$	4,819 \pm $\pm 0,426^{**\wedge\wedge\wedge}$	4,207 \pm $\pm 0,292^*$	0,594 \pm $\pm 0,035^{\wedge\wedge\circ}$

Примітки: * – статистична значущість різниці 95,00 % ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем;
 ** – статистична значущість різниці 99,00 % ($p \leq 0,01$) порівняно з контролем;
 *** – статистична значущість різниці 99,90 % ($p \leq 0,001$) порівняно з контролем;
 ^ – статистична значущість різниці 95,00 % ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім терміном;

^^ – статистична значущість різниці 99,00 % ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном;
^^^ – статистична значущість різниці 99,90 % ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном;
° – статистична значущість різниці 95,00 % ($p \leq 0,05$) порівняно з тим самим терміном звичайного перебігу запалення;
°° – статистична значущість різниці 99,00 % ($p \leq 0,01$) порівняно з тим самим терміном звичайного перебігу запалення;
°°° – статистична значущість різниці 99,90 % ($p \leq 0,001$) порівняно з тим самим терміном звичайного перебігу запалення.

За запалення на тлі застосування дабігатрану етексилату спостерігалось достовірне підвищення кількості сегментоядерних нейтрофілів на 1-шу, 14-ту, 21-шу і 28-му доби, що перевищувало показники групи контролю відповідно в 2,3 рази ($p < 0,01$), в 3,9 рази ($p < 0,01$), в 1,5 рази ($p < 0,05$), і в 3,3 рази ($p < 0,01$). Кількість сегментоядерних лейкоцитів змінювалась хвилеподібно, що відповідає змінам ЗКЛ. Про це свідчать достовірні зміни їх кількості з попередніми термінами, починаючи з 7-ої доби до 28-ої доби: зменшення на 7-му добу в 7,0 рази ($p < 0,01$), збільшення на 14-ту добу в 11,5 рази ($p < 0,01$), зменшення на 21-шу добу в 2,6 рази ($p < 0,01$), а також збільшення на 28-му добу в 2,3 рази ($p < 0,01$). Достовірне підвищення їх кількості на 28-му добу, очевидно, свідчить про менш виражену еміграцію у вогнище, менш виражений гемопоез у цей період у зв'язку зі зниженням інтенсивності хронічного запалення.

За запалення на тлі застосування дабігатрану етексилату, на відміну від природного перебігу запалення, зменшення кількості сегментоядерних лейкоцитів спостерігається на 7-му добу в 1,1 рази ($p < 0,05$), і достовірне збільшення на 14-ту добу в 2,3 рази ($p < 0,01$). На 28-му добу запалення на тлі введення дабігатрану етексилату спостерігається тенденція збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів в 1,3 рази в порівнянні з природним перебігом запалення, що свідчить про менш виражену емі-

грацію лейкоцитів у вогнище, у зв'язку зі зниженням інтенсивності хронічного запалення.

Вміст паличкоядерних нейтрофілів на тлі застосування дабігатрану етексилату на 1-шу добу достовірно перевищує показники групи контролю в 2,3 рази ($p < 0,05$). Також достовірно перевищення показників групи контролю спостерігалось на 21-шу і 28-му доби, відповідно в 1,92 рази ($p < 0,05$) та в 1,96 рази ($p < 0,01$). Також спостерігалось достовірне зменшення кількості паличкоядерних нейтрофілів на 7-му добу, в порівнянні з попереднім терміном, в 1,6 рази ($p < 0,05$). Динаміка кількості паличкоядерних нейтрофілів у крові збігається з динамікою вмісту сегментоядерних нейтрофілів та ЗКЛ. Порівняно з природним перебігом запалення зменшення кількості паличкоядерних нейтрофілів на 28-му добу може бути пов'язане із зниженням їх еміграції у вогнище і відповідно менш вираженим гемопоезом у зв'язку зі зменшенням інтенсивності хронічного запалення.

За запалення на тлі введення дабігатрану етексилату в порівнянні з контролем спостерігалось достовірне збільшення кількості еозинофілів протягом усього експерименту (з 1-ої до 28-ої доби) відповідно в 1,8 рази ($p < 0,01$), в 1,4 рази ($p < 0,05$), в 2,3 рази ($p < 0,01$), в 1,7 рази ($p < 0,05$) та в 1,92 рази ($p < 0,01$). Також спостерігали достовірне збільшення еозинофілів на 14-ту добу, в порівнянні з попереднім терміном,

в 1,6 раза ($p < 0,05$), і 28-му добу в 1,2 раза ($p < 0,05$). Порівняно з природнім перебігом запалення, вміст еозинофілів збільшувався на 14-ту добу в 1,2 раза, і до завершення експерименту спостерігалось підвищення їх кількості, що також свідчить про те, що застосування дабігатрану етексилату зменшує хронізацію запалення.

За запалення на тлі застосування дабігатрану етексилату вміст моноцитів у крові був достовірно нижчим на 1-шу добу, в порівнянні з контролем, в 1,6 раза ($p < 0,01$), а також підвищеним на 7-му і 14-ту доби відповідно в 1,62 раза ($p < 0,01$), і в 1,68 раза ($p < 0,05$), і до завершення експерименту їх кількість суттєво не відрізнялась від контролю. У порівнянні з попереднім терміном на 7-му добу їх кількість була підвищеною в 2,64 раза ($p < 0,01$), а на 28-му добу була зниженою в 1,3 раза ($p < 0,01$). Порівняно з природнім перебігом запалення на 28-му добу спостерігалось достовірне зменшення кількості моноцитів у 1,62 раза ($p < 0,01$), що, очевидно, свідчить про те, що застосування дабігатрану етексилату зменшує хронізацію запалення.

За запалення на тлі застосування дабігатрану етексилату кількість лімфоцитів у крові достовірно перевищувала контроль з 1-ої до 28-ої доби відповідно в 1,8 раза ($p < 0,05$), в 2,0 раза ($p < 0,05$), в 1,7 раза ($p < 0,05$), в 1,9 раза ($p < 0,05$), та в 1,5 раза ($p < 0,05$). Порівняно з природ-

ним перебігом запалення протягом всього експерименту кількість лімфоцитів статистично не відрізнялась від природного перебігу запалення.

Висновки

Таким чином, застосування блокатора тромбіну дабігатрану етексилату, в порівнянні з природнім перебігом вторинно хронічного карагінанового запалення, сприяє залученню лейкоцитів на 14-ту добу, що приводить до більшої елімінації флогогену в цей період, а зменшення кількості лейкоцитів на 21-шу і 28-му доби в період хронізації запалення свідчить про зниження потреби в лейкоцитах у ці терміни. Тенденція збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів у 1,3 раза на 28-му добу запалення на тлі введення дабігатрану етексилату, в порівнянні з природнім перебігом запалення, свідчить про менш виражену еміграцію лейкоцитів у вогнище у зв'язку зі зниженням інтенсивності хронічного запалення. Зменшення кількості паличкоядерних нейтрофілів у периферичній крові на 28-му добу може бути пов'язане зі зниженням їх еміграції у вогнище запалення. Достовірне зменшення кількості моноцитів у 1,62 раза ($p < 0,01$) на 28 му добу свідчить про те, що застосування блокатора тромбіну дабігатрану етексилату знижує адгезію лейкоцитів і зменшує хронізацію запалення.

Конфлікт інтересів відсутній.

Література

1. Medzhitov R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*. 2010;140(6):771-6. DOI: 10.1016/j.cell.2010.03.006. PMID: 20303867.
2. Ferrero-Miliani L, Nielsen OH, Andersen PS, Girardin SE. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. *Clin Exp Immunol*. 2007;147(2):227-35. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x. PMID: 17223962.
3. Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell*. 2010;140(6):871-82. DOI: 10.1016/j.cell.2010.02.029. PMID: 20303877.

4. Zhou Y, Hong Y, Huang H. Triptolide Attenuates Inflammatory Response in Membranous Glomerulonephritis Rat via Downregulation of NF-kappaB Signaling Pathway. *Kidney and Blood Press Res.* 2016;41(6):901-10. DOI: 10.1159/000452591. PMID: 27871079.
5. Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009;1(6):a001651. DOI: 10.1101/cshperspect.a001651. PMID: 20457564.
6. Stramer BM, Mori R, Martin P. The inflammation-fibrosis link? A Jekyll and Hyde role for blood cells during wound repair. *J Invest Dermatol.* 2007;127(5):1009-17. DOI: 10.1038/sj.jid.5700811. PMID: 17435786.
7. Van Linthout S, Miteva K, Tschope C. Crosstalk between fibroblasts and inflammatory cells. *Cardiovasc Res.* 2014;102(2):258-69. DOI: 10.1093/cvr/cvu062. PMID: 24728497.
8. Robb CT, Regan KH, Dorward DA, Rossi AG. Key mechanisms governing resolution of lung inflammation. *Semin Immunopathol.* 2016;38(4):425-48. DOI: 10.1007/s00281-016-0560-6. PMID: 27116944.
9. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(3):173-82. DOI: 10.1038/nri1785. PMID: 16498448.
10. Jabbour HN, Sales KJ, Catalano RD, Norman JE. Inflammatory pathways in female reproductive health and disease. *Reproduction.* 2009;138(6):903-19. DOI: 10.1530/REP-09-0247. PMID: 19793840.
11. Fujiwara N, Kobayashi K. Macrophages in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2005;4(3):281-6. DOI: 10.2174/1568010054022024. PMID: 16101534.
12. Huang C, Sali A, Stevens RL. Regulation and function of mast cell proteases in inflammation. *J Clin Immunol.* 1998;18(3):169-83. DOI: 10.1023/a:1020574820797. PMID: 9624576.
13. Aggrey AA, Srivastava K, Ture S, Field DJ, Morrell CN. Platelet induction of the acute-phase response is protective in murine experimental cerebral malaria. *J Immunol.* 2013;190(9):4685-91. DOI: 10.4049/jimmunol.1202672. PMID: 23536632.
14. Headland SE, Norling LV. The resolution of inflammation: Principles and challenges. *Semin Immunol.* 2015;27(3):149-60. DOI: 10.1016/j.smim.2015.03.014. PMID: 25911383.
15. Reville K, Crean JK, Vivers S, Dransfield I, Godson C. Lipoxin A4 redistributes myosin IIA, Cdc42 in macrophages: implications for phagocytosis of apoptotic leukocytes. *J Immunol.* 2006;176(3):1878-88. DOI: 10.4049/jimmunol.176.3.1878. PMID: 16424219.
16. Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol.* 2005;6(12):1191-7. DOI: 10.1038/ni1276. PMID: 16369558. Link?
17. Lintermans LL, Stegeman CA, Heeringa P, Abdulahad WH. T cells in vascular inflammatory diseases. *Front Immunol.* 2014;5:504. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00504. PMID: 25352848.
18. Sugimoto MA, Sousa LP, Pinho V, Perretti M, Teixeira MM. Resolution of Inflammation: What Controls Its Onset? *Front Immunol.* 2016;7:160. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00160. PMID: 27199985.
19. Radhakrishnan R, Moore SA, Sluka KA. Unilateral carrageenan injection into muscle or joint induces chronic bilateral hyperalgesia in rats. *Pain.* 2003;104(3):567-77. DOI: 10.1016/S0304-3959(03)00114-3. PMID: 12927629.
20. Dittmeier M, Wassmuth K, Schuhmann MK, Kraft P, Kleinschnitz C, Fluri F. Dabigatran Etxilate Reduces Thrombin-Induced Inflammation and Thrombus Formation in Experimental Ischemic Stroke. *Curr Neurovasc Res.* 2016;13(3):199-206. DOI: 10.2174/1567202613666160517122605. PMID: 27184031.

21. Durmaz S, Kurtoglu T, Rahman OF, Tataroglu C, Yılmaz M, Barbarus E, Erkan MH. Direct oral anticoagulant agents attenuate temporary aortic occlusion-induced renal oxidative and inflammatory responses in rats. *Turk Gogus Kalp Damar Cerrahisi Derg.* 2022;30(2):184-91. DOI: 10.5606/tgkdc.dergisi.2022.22831. PMID: 36168569.

22. Vogler GA. Anesthesia and Analgesia. Chapter 19. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL. (eds.). *The Laboratory Rat. Second Edition.* Burlington: Academic Press; 2006. P. 627-64. DOI: 10.1016/B978-012074903-4/50022-4.

23. Abdi-Azar H, Abbasi-Maleki S. Comparison of the anesthesia with thiopental sodium alone and their combination with *Citrus aurantium L.* (Rutaseae) essential oil in male rat. *Bull Env Pharmacol Life Sci.* 2014;3(Spl Issue V):37-44. Available at: https://bepls.com/spl_v_2014/8.pdf

24. Mishra P, Singh U, Pandey CM, Mishra P, Pandey G. Application of Student's t-test, analysis of variance, and covariance. *Ann Card Anaesth.* 2019;22(4):407-11. DOI: 10.4103/aca.ACA_94_19. PMID: 31621677.

Shevchenko V.O.

LEUKOCYTE REACTION OF PERIPHERAL BLOOD IN SECONDARY CHRONIC CARRAGEENAN INFLAMMATION AFTER ADMINISTRATION OF THE THROMBIN BLOCKER DABIGATRAN ETEXILATE

The experimental study was conducted on 72 adult male WAG laboratory rats weighing 180–200 g. The study was conducted in accordance with the guidelines of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes. Intact rats served as a control for the natural course of inflammation, and rats receiving dabigatran etexilate without further induction of chronic inflammation served as a control for inflammation in the setting of dabigatran etexilate administration. The model of inflammation was carrageenan secondary chronic aseptic inflammation, which was induced by intramuscular injection of 10 mg λ -carrageenan (Sigma, USA) dissolved in 1 ml of isotonic sodium chloride solution into the right thigh. Dabigatran etexilate was administered intragastrically through a gavage tube at a dose of 15 mg/kg/day dissolved in 1 ml of isotonic sodium chloride solution daily throughout the experiment, which lasted 28 days. The results of the study have shown that the use of a thrombin blocker dabigatran etexilate, compared with the natural course of secondary chronic carrageenan inflammation, promotes the involvement of leukocytes on the 14th day, which leads to greater elimination of phlogogen during this period, and a decrease in the number of leukocytes on the 21st and 28th days during the period of chronic inflammation, which indicates a decrease in the need for leukocytes in these periods. The tendency to increase the number of segmented neutrophils by 1.3 times on the 28th day of inflammation after administration of dabigatran etexilate, compared with the natural course of inflammation, indicates a less pronounced emigration of leukocytes to the inflammatory focus due to a decrease in the intensity of chronic inflammation. A decrease in the number of banded neutrophils in the peripheral blood on the 28th day may be associated with a decrease in their emigration to the inflammatory focus. A significant decrease in the number of monocytes by 1.62 times ($p < 0.01$) on the 28th day indicates that the use of the thrombin blocker dabigatran etexilate reduces leukocyte adhesion and reduces the chronicity of inflammation.

Keywords: *inflammation, leukocytes, peripheral blood, thrombin.*

Надійшла до редакції 13.10.2023

Відомості про автора

Шевченко Владислав Олександрович – аспірант кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, пр. Науки, 4, ХНМУ.

E-mail: voshevchenko.po21@knmu.edu.ua

ORCID: 0009-0005-2546-9467.