

УДК 616.23-007.271:615.33

Курганский И.С.<sup>1,2</sup>, Лепехова С.А.<sup>2</sup>, Зарицкая Л.В.<sup>3</sup>, Иноземцев Е.О.<sup>1</sup>,  
Пивоваров Ю.И.<sup>1</sup>, Григорьев Е.Г.<sup>1,4</sup>

## ВЛИЯНИЕ ОДНОМОМЕНТНОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СУЖЕНИЯ ПРОСВЕТА ТРАХЕИ НА СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ У КРЫС

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Иркутский научный центр хирургии и травматологии», 664003, г. Иркутск,  
ул. Борцов Революции, 1, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Иркутский научный  
центр СО РАН», 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 134, Россия

<sup>3</sup> Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования –  
филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия  
непрерывного профессионального образования» Минздрава России, 664049,  
г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия

<sup>4</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, 664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия

**Цель исследования.** Изучить влияние одномоментного сужения просвета трахеи у крысы более 50% на выбранные показатели воспалительной реакции периферической крови.

**Материалы и методы.** Для оценки динамики воспалительных изменений в трахее выполнено моделирование сужения просвета трахеи по оригинальной методике на 58,3%. В исследование было включено 24 крысы-самца линии «Wistar» в возрасте 10 месяцев. Забор периферической крови животным выполнялся утром на голодный желудок. Выполнен подсчет количества лейкоцитов, лейкоцитарной формулы.

**Результаты.** Выявлено, что одномоментное сужение просвета трахеи сопровождается лейкоцитозом на всем протяжении исследования. Количество сегментоядерных нейтрофилов остается низким на 3 и 7 сутки исследования с резким повышением к 14 суткам исследования. Количество эозинофилов и моноцитов выше нормы с 3 суток исследования, но падает ниже нормы к 7 суткам исследования и нормализуется на 14 сутки исследования. Количество лимфоцитов остается высоким до 7 суток исследования, с резким снижением к 14 суткам исследования. Полученные результаты свидетельствуют об активной воспалительной реакции организма до 7 суток исследования, с возможным включением аутоиммунной реакции к хрящам трахеи, проявляющейся повышением эозинофилов и моноцитов. К 14 суткам исследования количество лейкоцитов оставалось высоким, отмечался рост количества сегментоядерных нейтрофилов, и снижение количества моноцитов, эозинофилов и лейкоцитов, что говорит о сдвиге лейкоцитарной формулы влево и истощению защитных механизмов организма.

**Заключение.** Данные изменения свидетельствуют о тяжелом течении заболевания и необходимости скорейшего купирования сужения просвета трахеи, во избежание развития септических осложнений.

**Ключевые слова:** сужение просвета трахеи, стеноз трахеи, воспаление, лейкоцитарная формула.

Kurganskiy I.S.<sup>1,2</sup>, Lepekhova S.A.<sup>2</sup>, Zaritskaya L.V.<sup>3</sup>,  
Inozemtsev E.O.<sup>1</sup>, Pivovarov Y.I.<sup>1</sup>, Grigoryev E.G.<sup>1,4</sup>

## THE INFLUENCE OF SIMULTANEOUS EXPERIMENTAL TRACHEAL NARROWING ON NUMBER OF LEUKOCYTES IN RATS' ORGANISM

<sup>1</sup> Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Irkutsk Scientific Center SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

<sup>3</sup> Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Irkutsk, Russian Federation

<sup>4</sup> Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

**The aim of the research.** The paper aims to study the effect of simultaneous narrowing of the rats tracheal airway by more than 50% on selected indicators of the peripheral blood's inflammatory reaction.

**Materials and methods.** To assess the dynamics of inflammatory changes in the trachea, the narrowing of the tracheal airway by 58.3% was modelled with the use of original method. The study includes 24 male Wistar rats at the age of 10 months. Peripheral blood samples of animals were collected in the morning on an empty stomach. The count of the number of leukocytes, leukocyte formula was made.

**Results.** It was revealed that a simultaneous narrowing of the tracheal airway is accompanied with leukocytosis throughout the study. The number of segmented neutrophils remains low on the 3rd and 7th day of the study and increases sharply on the 14th day. The number of eosinophils and monocytes is above normal from the 3rd day, falls below the normal level by the 7th day and than normalizes by the 14th day of the study. The number of lymphocytes remains high until the 7th day of the study, with a sharp decrease on the 14th day. The obtained results indicate an active inflammatory reaction of the body, lasting up to 7 days, with the possible inclusion of autoimmune reaction to the tracheal cartilage, that is performed in eosinophils and monocytes number increase. By the 14th day of the study, the number of leukocytes remained high, there was an increase in the number of segmented neutrophils, and a decrease in the number of monocytes, eosinophils and leukocytes, which indicates a shift of the leukocyte formula to the left and depletion of the protective mechanisms of the organism.

**Conclusion.** The changes revealed in the study indicate a severe course of the disease and the need for early manage of tracheal narrowing, in order to avoid the development of septic complications.

**Key words:** narrowing of the tracheal airway, tracheal stenosis, inflammation, leukocyte formula.

Несмотря на развитие новых технологий, применяемых при лечении пациентов с рубцовыми стенозами трахеи, эффективность остается низкой, а ежегодный прирост пациентов с сужением просвета трахеи составляет около 5%. Частота встречаемости рубцового стеноза трахеи после перенесенной длительной искусственной вентиляции легких составляет по данным авторов до 25%, при онкологической патологии верхних дыхательных путей и легких до 20% случаев в структуре онкологической заболеваемости [1, 2]. Сужение просвета трахеи вследствие инородного тела, ожога, длительной интубации и т.п., вызывает нарушение внешнего дыхания, присоединение бактериальной инфекции и развитие воспаления в стенке трахеи [3, 4]. Для поиска новых методов лечения ведутся разработки экспериментальных моделей сужения просвета трахеи, приближенные к течению заболевания в клинике. Методы, используемые при моделировании рубцовых стенозов трахеи, чрезвычайно разнообразны: это и химическое повреждение стенки трахеи, и применение различных оперативных методов, нами была предложена модель сужения просвета трахеи на 58,3%, с установкой в просвете трахеи силиконовой трубки [5].

Для оценки динамики процессов воспаления и регенерации в стенке трахеи используют известные маркеры воспалительной реакции организма, включая показатели клеточного состава периферической крови. У пациентов с сужением просвета трахеи отмечается активация клеток воспалительного ряда, нейтрофилов и других гранулоцитов [6].

**Цель исследования:** оценить показатели воспалительной реакции в периферической крови при моделировании сужения просвета трахеи крыс в раннем послеоперационном периоде.

**Материалы и методы.** Исследование было выполнено на базе научного отдела экспериментальной хирургии с виварием ИНЦХТ, с использованием 24 белых крыс-самцов линии «Wistar» 10-месячного возраста с массой тела 300–350 г. Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, что соответствует нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» (виварий I категории, вет. удостоверение 238 № 000360 от 30 апреля 2015 г., служба ветеринарии Иркутской области) по утвержденным СОП [7]. Опыты на животных выполняли в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, регламентированными «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Приказом МЗ СССР № 742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.85 г. «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных». Исследование одобрено локальным этическим комитетом. Все оперативные вмешательства проводили в стерильных условиях под общим обезболиванием.

Моделирование сужения просвета трахеи выполняли оригинальным способом, путем размещения силиконовой трубки в просвете трахеи на 14 дней [5]. Животных выводили из эксперимента на 3-е, 7-е и 14-е сутки. Забор крови для лабораторных исследований проводили у всех крыс в утренние часы на голодный желудок. За норму принимали показатели, полученные у шести здоровых животных, содержащихся в одинаковых условиях с экспериментальными. У животных исследовали лейкоцитарный профиль в периферической крови. Исследования проводили в лабораторном отделе Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России. Подсчитывали количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу крови по общепринятым методикам [8].

Все экспериментальные данные исследований были статистически обработаны с использованием программы Statistica 10.0 (лицензия № AXAR402G263414FA-V) и представлены в виде медианы с нижним и верхним квартилями (25-й и 75-й процентиля). Определение значимости различий, полученных данных ( $p$ ) в сравниваемых выборках проведено с использованием непараметрических методов (критерий Манна-Уитни ( $U$ ), критерий Вилкоксона ( $W$ )) [9].

**Результаты и их обсуждение.** Для оценки показателей воспалительной реакции при моделировании сужения просвета трахеи оригинальным способом в качестве маркеров нами выбраны показатели количества лейкоцитов и изменений в лейкоцитарной формуле на 3, 7 и 14 сутки исследования (Табл.1).

Таблица 1

Результаты оценки количества лейкоцитов и изменений в лейкоцитарной формуле при моделировании гипертензии малого круга кровообращения (медиана, квартили)

Показатель		Экспериментальная группа		
		3 сутки	7 сутки	14 сутки
Лейкоциты $10^9$		7,75 (7,10-9,40) *	10,43 (9,80-11,30) *•	10,18 (10,00-11,20) *
	Норма	3,23 (3,20-3,25)		
Сегментоядерные $10^9$		25 (24-26) *	32,5 (32-33) *•	46 (43-48) *○
	Норма	38,5 (38-39)		
Эозинофилы $10^9$		4,5 (4-5) *	1 (1-1) *•	3 (2-3) ○
	Норма	2,0 (2,0-2,0)		
Моноциты $10^9$		11,00 (8,00-13,00) *	3,00 (2,00-4,00) *•	6,50 (6,00-7,00) ○
	Норма	6,50 (6,00-7,00)		
Лимфоциты $10^9$		58,50 (56,00-64,00) *	64,00 (63,00-64,00) *	44,50 (43,00-47,00) *○
	Норма	50,5 (50-51)		

*Примечания:* \* – статистически значимые различия по критерию Манна-Уитни по сравнению с нормой ( $p_U \leq 0,05$ ); • – статистически значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с показателем в той же группе, статистическая значимость между 3 и 7 сутками ( $p_W \leq 0,05$ ); ○ – статистически значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с показателем в той же группе, статистическая значимость между 7 и 14 сутками ( $p_W \leq 0,05$ ).

На третьи сутки исследования после моделирования сужения просвета трахеи был выявлен лейкоцитоз ( $p_U=0,0039$ ), сохраняющийся на 7 ( $p_U=0,0063$ ) и 14 сутки исследования ( $p_U=0,0063$ ).

Количество сегментоядерных лейкоцитов было ниже нормы на 3 ( $p_U=0,0039$ ) и 7 ( $p_U=0,0031$ ) сутки исследования, со значительным повышением показателя к 14 сутками исследования ( $p_U=0,0036$ ).

Процентное содержание эозинофилов было существенно выше нормы на 3 сутки ( $p_U=0,0039$ ) исследования, со снижением ниже нормы на 7 сутки ( $p_U=0,0259$ ) исследования и нормализацией к 14 суткам исследования ( $p_U=0,1944$ ).

Количество моноцитов на 3 сутки исследования было выше нормы ( $p_U=0,0070$ ), с резким снижением к 7 ( $p_U=0,0034$ ) суткам и нормализацией к 14 суткам ( $p_U=0,7892$ ).

При оценке количества лимфоцитов было выявлено повышение показателя на 3 ( $p_U=0,0036$ ) и 7 ( $p_U=0,0030$ ) сутки исследования, с резким снижением к 14 суткам исследования ( $p_U=0,0035$ ).

При исследовании количества лейкоцитов периферической крови выявлено статистически значимое повышение к 7 суткам исследования по сравнению с предыдущим значением на третьи сутки ( $p_W=0,0277$ ). Достоверных различий в показателях количества лейкоцитов на 7 и 14 сутки исследования выявлено не было.

Уровень сегментоядерных нейтрофилов увеличивается к 7 суткам исследования по сравнению с предыдущим значением на третьи сутки ( $p_W=0,0277$ ) и дальнейшее повышение к 14 суткам по сравнению с показателем на 7-е сутки ( $p_W=0,0277$ ), отметим, что уровень сегментоядерных нейтрофилов за весь период наблюдения был максимальным на 14-е сутки.

Количество эозинофилов в периферической крови уменьшается к 7 суткам ( $p_W=0,0277$ ) исследования, и показатель нормализуется к 14 суткам исследования ( $p_W=0,0431$ ).

В динамике исследования моноцитов отмечается резкое снижение показателя к 7 суткам исследования ( $p_W=0,0277$ ) с нормализацией к 14 суткам исследования ( $p_W=0,0277$ ), отметим, что уровень моноцитов за весь период наблюдения был максимальным на третьи сутки.

При оценке количества лимфоцитов в динамике достоверных различий между показателем на 3 и 7 сутки исследования не выявлено ( $p_W=0,0796$ ), выявлено снижение показателя к 14 суткам исследования ( $p_W=0,0277$ ). Отметим, что уровень лимфоцитов за весь период наблюдения был максимальным на 7-е сутки.

**Выводы.** Таким образом, нами установлено, что моделирование сужения просвета трахеи сопровождается лейкоцитозом, который сохраняется до 14-х суток, в лейкоцитарной формуле выявлено уменьшение количества сегментоядерных лейкоцитов, однако повышение количества моноцитов, эозинофилов и лимфоцитов к 3 суткам. К 7 суткам показатели сегментоядерных лейкоцитов, моноцитов, эозинофилов и лимфоцитов оставались в пределах нормы или ниже. К 14 суткам выявлено повышение концентрации сегментоядерных лейкоцитов, однако остальные показатели были понижены. Данные результаты свидетельствуют о активной воспалительной реакции организма на 3 сутки исследования, отсутствии воспалительных изменений в венозной крови к 7 суткам исследования и выбросу сегментоядерных лейкоцитов из простимулированного костного мозга к 14 суткам исследования. Выявленные изменения свидетельствуют о тяжёлом течении заболевания, присоединении инфекции и истощению защитных механизмов организма.

### Литература:

1. Паршин В.Д., Королева И.М., Мищенко М.А. Эволюция методов диагностики рубцового стеноза трахеи и трахеомалиции. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2016. 5.17-25. <https://doi.org/10.17116/hirurgia2016517-25>
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). Москва, 2018. 250 с.
3. Курганский И.С., Махутов В.Н., Лепехова С.А., Ветохина А.В., Коваль Е.В., Фадеева Т.В., Иноземцев Е.О., Григорьев Е.Г. Оценка микробной контаминации трахеобронхиального дерева у пациентов с рубцовыми стенозами трахеи. Acta Biomedica Scientifica. 2017. 2 (3). 18-22.
4. Паршин В. Д., Выжигина М.А., Русаков М.А., Паршин В.В., Титов В.А., Старостин А.В. Постреанимационный рубцовый стеноз трахеи: современное состояние проблемы – успехи, надежды и разочарования. Анестезиология и реаниматология. 2016. 61 (5). 360-366 DOI: 10.18821/0201-7563-2016-61-5-360-366
5. Курганский И.С., Лепехова С.А., Гольдберг О.А., Махутов В.Н. Способ моделирования гипертонии малого круга кровообращения: Пат. № 2627463 Рос. Федерация; МПК G09B 23/28 (2006.01); заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». №

2016129674; заявл. 13.06.2017; опубл. 08.08.2017. Бюл. № 22.

6. Ильина К.Е. Клинико-иммунологическая и морфологическая характеристика пациентов с трахеостомой и сопутствующей бронхо-легочной патологией. Разработка алгоритма ведения. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Москва, 2009. 92 с.
7. Лепехова С.А. Программа стандартных операционных процедур: лабораторные животные (прием, содержание, уход и контроль здоровья животных в вивариях медицинского учреждения): учеб. пособие. Иркутск: НЦРВХ СО РАМН. ИГМУ, 2012. 96 с.
8. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М.: Медицина. 2000. 544 с.
9. Спрейс И.Ф., Алферова М.А., Михалевич И.М., Рожкова Н.Ю. Основы прикладной статистики (использование Excel и Statistica в медицинских исследованиях): учеб. пособие. Иркутск: РИО ГИУВа, 2006. 71 с.

#### References:

1. Parshin V.D., Koroleva I.M., Mishchenko M.A. Evolution of diagnostic methods for cicatricial tracheal stenosis and tracheomalacia. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. [Surgery. Journal of N.I. Pirogova]. 2016. 5.17-25. <https://doi.org/10.17116/hirurgia2016517-25>. in Russian.
2. Kaprin A.D., Starinsku V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2016 (morbidity and mortality), Moscow 2018, 250 p. in Russian.
3. Kurganskii I.S., Makhutov V.N., Lepekhova S.A., Vetokhina A.V., Koval' E.V., Fadeeva T.V., Inozemtsev E.O., Grigor'ev E.G. Evaluation of microbial contamination of the tracheobronchial tree in patients with cicatricial stenoses of the trachea. *Acta Biomedica Scientifica* 2017. 2 (3). 18-22. in Russian.
4. Parshin V. D., Vyzhigina M.A., Rusakov M.A., Parshin V.V., Titov V.A., Starostin A.V. Postresuscitative cicatricial stenosis of the trachea. The current state of the problem is success, hope and disappointment. *Anaesthesiology and Reanimatology*. 2016. 61 (5). 360-366. in Russian.
5. Kurganskii I.S., Lepekhova S.A., Gol'dberg O.A., Makhutov V.N. The method of modeling of hypertension of the small circle of blood circulation. Pat. № 2627463 Ros. Federation; IPC G09B 23/28 (2006.01); applicant and patent holder Federal State Budget Scientific Institution "Irkutsk Scientific Center for Surgery and Traumatology". №. 2016129674; claimed. 06/13/2017; publ. 08/08/2017. Bul. № 22. in Russian.
6. Il'ina K.E. Clinico-immunological and morphological characteristics of patients with tracheostomy and concomitant broncho-pulmonary pathology. Development of the algorithm of reference. Dissertation for the degree of candidate of medical sciences. Moscow, 2009. 92 p. in Russian.
7. Lepekhova S.A. The program of standard operating procedures: laboratory animals (reception, maintenance, care and control of animal health in the vivariums of a medical institution): training. Allowance. Irkutsk, 2012. 96 p. in Russian.
8. Nazarenko G.I., Kishkun A.A. Clinical evaluation of laboratory results Moscow: Medicine, 2000. 544 p. in Russian.
9. Spreis I.F., Alferova M.A., Mikhalevich I.M., Rozhkova N.Yu. Fundamentals of Applied Statistics (Using Excel and Statistica in Medical Research): Textbook. Allowance. Irkutsk, 2006. 71 p. in Russian.