

УДК 612.112:616-001.4-092.9:612.275.9
AGRIS L20

https://doi.org/10.33619/2414-2948/60/28

ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ ПРОФИЛЬ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА В УСЛОВИЯХ НИЗКОГОРЬЯ И В ПЕРИОД ДЕАДАПТАЦИИ К ВЫСОКОГОРЬЮ

©*Ниязов Б. С., д-р мед. наук, Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации, г. Бишкек, Кыргызстан, niyazov1949@mail.ru*

©*Мамакеев Ж. Б., Национальный хирургический центр, г. Бишкек, Кыргызстан*

©*Сабитов А. А., Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации, г. Бишкек, Кыргызстан*

©*Маманов Н., Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации, г. Бишкек, Кыргызстан*

LEUKOCYTE PROFILE IN EXPERIMENTAL ANIMALS IN MODELING A WOUND PROCESS UNDER LOW ALTITUDE CONDITIONS AND IN THE PERIOD OF DEADAPTATION TO HIGH ALTITUDE

©*Niyazov B., Dr. habil., Kyrgyz State Medical Institute of retraining and advanced training, Bishkek, Kyrgyzstan, niyazov1949@mail.ru*

©*Mamakeev Zh., National Surgical Center, Bishkek, Kyrgyzstan*

©*Sabitov A., Kyrgyz State Medical Institute of retraining and advanced training, Bishkek, Kyrgyzstan*

©*Mamanov N., Kyrgyz State Medical Institute of retraining and advanced training, Bishkek, Kyrgyzstan*

Аннотация. В статье представлен лейкоцитарный профиль у экспериментальных животных при моделирование раненого процесса в условиях низкогорья и в период деадаптации к высокогорью. Животные были разделены на 3 серии: I серия — контрольная, постоянно обитающие в условиях г. Бишкек; II серия — опытная, после 3-х дневного пребывания на экспериментальной высокогорной базы КГМА им. И. К. Ахунбаева в составе ЦНИЛ, перемещенные в условия г. Бишкек с последующим моделированием и наблюдением за течением раневого процесса; III серия — опытная, после 30-ти дневного пребывания на экспериментальной высокогорной базы КГМА им. И. К. Ахунбаева в составе ЦНИЛ, перемещенные в условия г. Бишкек с последующим моделированием и наблюдением за течением раневого процесса. Анализ полученных лейкограмм показывает, что в группе гнойного воспаления в период деадаптации к высокогорью после кратковременного пребывания в горах на 3-е сутки исследования отмечается лейкоцитоз, в ходе исследования отмечено снижение данного показателя и на 30-й день не достигал нормы.

Abstract. The article presents the leukocyte profile in experimental animals during the modeling of the wounded process in the conditions of low mountains and during the period of maladjustment to the high mountains. The animals were divided into 3 series: Series I — control series, permanently living in the conditions of Bishkek; Series II — an experimental series, after a 3-day stay at the experimental high-mountain base of the KSMA named after I. K. Akhunbaev as part of the Central Scientific Research Laboratory, moved to the conditions of Bishkek with subsequent modeling and monitoring of the course of the wound process; III series —

an experimental series, after a 30-day stay at the experimental high-mountain base of the KSMA named after I. K. Akhunbaev as part of the Central Scientific Research Laboratory, moved to the conditions of Bishkek, followed by modeling and monitoring the course of the wound process. The analysis of the obtained leukograms shows that in the group of purulent inflammation during the period of maladjustment to the highlands after a short stay in the mountains, on the 3rd day of the study, leukocytosis is noted, during the study, a decrease in this indicator was noted and on the 30th day did not reach the norm.

Ключевые слова: высокогорье, деадаптация, раневой процесс.

Keywords: highlands, deadaptation, wound process.

Введение

Проблема лечения гнойных ран сохраняет актуальность, несмотря на то, что в последние десятилетия в области экспериментальной и клинической медицины достигнуты, безусловно, определенные успехи [1–2]. Поверхность раны не является стерильной и колонизирована многочисленными патогенными микроорганизмами [3]. Среди всех хирургических больных раневая инфекция встречается у 35–45% больных [4–5].

В последнее время было отмечено, что любые изменения природной среды (урбанизация, естественные и техногенные катастрофы) имеют влияние на течение раневого процесса, так как влияют на изменение биологических свойств раневой микрофлоры и иммунной защиты человека [6–8]. Условия высокогорья и другие природные особенности не являются исключением.

Проблемы механизмов адаптации организма человека и животных к факторам высокогорья, особенно в Киргизской Республике, являются актуальными [9–10].

Актуально является цитологическая оценка динамики репаративных процессов экспериментальных ран в ходе лечения в период деадаптации к высокогорью.

Цель исследования — на основании цитологического исследования определить влияние мази «Левомеколь» на течение раневого процесса в период деадаптации к высокогорью.

Материал и методы исследования

С целью выполнения поставленных целей и задач исследования соответственно плану были проведены ряд экспериментов и лабораторных исследований на базе Проблемной научно-исследовательской лаборатории клинической и экспериментальной хирургии Национального хирургического центра Министерства здравоохранения Кыргызской Республики и экспериментальной высокогорной базы КГМА им. И. К. Ахунбаева в составе Центральной научно-исследовательской лаборатории на перевале Туя-Ашуу.

Материалом исследования для эксперимента послужили 150 беспородных половозрелых разнополых кроликов весом 3,5–4,0 кг. Все животные прошли обязательную вакцинацию, дегельминтизацию и выдерживания в карантине сроком 21 день.

Дизайн исследования, основные правила содержания и ухода были согласованы с Комитетом по Биоэтике КГМА им. И. К. Ахунбаева. Лабораторные животные содержались в равных условиях вивария, одинаковом уходе руководствуясь базисными нормативными документами: «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» и в соответствии с нормативами ГОСТ «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» 1978 г. Кормление

осуществлялось по нормам, установленным приказом Минздрава СССР №1179 от 10.10.1983 г. «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения», со свободным доступом к воде.

Опыты выполнялись в соответствии с правилами лабораторной практики (GLP) (приказ №708 от 23 августа 2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики»); правилами гуманного обращения с животными, регламентированных «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных Приказом МЗ СССР №742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных»; на основании положений изложенных в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации норм асептики и антисептики 1964 г., дополненной в 1975, 1983, 1989 гг. и с учетом требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целей (Страсбург, 18 марта 1986 г.).

Все оперативные вмешательства проводились под общим наркозом с соблюдением правил асептики и антисептики. С целью введения лабораторных животных в медикаментозный сон использовался Кетамин в/в, из расчета 7 мг/кг веса.

У экспериментальных животных раневой процесс вызывался по методике описанным ниже.

Животные были разделены на 3 серии:

I серия — контрольная серия, кролики (50 особей), постоянно обитающие в условиях г. Бишкек;

II серия — опытная серия, кролики (50 особей), после 3-х дневного пребывания на экспериментальной высокогорной базы КГМА им. И. К. Ахунбаева в составе ЦНИЛ, перемещенные в условия г. Бишкек с последующим моделированием и наблюдением за течением раневого процесса;

III серия — опытная серия, кролики (50 особей), после 30-ти дневного пребывания на экспериментальной высокогорной базы КГМА им. И. К. Ахунбаева в составе ЦНИЛ, перемещенные в условия г. Бишкек с последующим моделированием и наблюдением за течением раневого процесса.

В каждой серии животные были разделены на 2 группы.

1 группа — животные, с экспериментальной моделью асептического воспаления (25 особей);

2 группа — животные, с экспериментальной моделью микробного воспаления (25 особей).

Методика моделирования раны

После введения животных в медикаментозный сон, животных фиксировали в положении на животе.

Асептическое воспаление моделировали путем подкожного введения в межлопаточную область 0,3 мл скипидара на вазелиновом масле. Перед этим у животных в межлопаточной области выстригали шерсть и подкожно вводили 0,5 мл воздуха [2]. Подкожное введение скипидара приводило к развитию асептического воспаления. Так, через 1 сутки от начала введения скипидара у крыс клинически развивалась картина острого воспаления с явлениями гиперемии. Очаг воспаления визуально без особенностей. В области введения скипидара отмечался выраженный отек ткани, при пальпации резко болезненный. При вскрытии обнаруживался ожог мягких тканей с элементами некроза, очаг ограничен, ярко выраженный

сосудистый рисунок.

Острое гнойное воспаление моделировали по следующей методике: после предварительной подготовки операционного поля, по трафарету диаметром 50 мм, выполненному из листа рентгеновской пленки, на область планируемого разреза 1% спиртовым раствором бриллиантового зеленого наносились контуры стандартной обширной раны округлой формы в межлопаточной области. По намеченному контуру рассекалась кожа, поверхностная фасция. На дне раны надсекали мышцы скальпелем. Образовавшийся кожный лоскут стандартного размера переворачивали шерстью вниз к поверхности раневого дефекта с последующим подшиванием к свободному кожному краю и подлежащим тканям по всему периметру непрерывным швом капроновой нитью №4. Через 48 ч удаляли лоскут, после удаления лоскута наблюдалась инфицированная рана с классическими признаками воспаления [1].

Все исследования проводились на 3, 7, 15, 20 и 30 день исследования, включая в себя оценку и контроль за течением раневого процесса на основании местных клинических данных, показатели лейкоцитарной формулы по общепринятой методике, микробиологическое исследование, определение цитокинов плазмы крови в динамике раневого процесса.

Для оценки клинической картины, в указанные сроки у животных изучались динамика показателей лейкоцитарной формулы. Забор крови проводили в количестве 3,0 мл, после чего вводили в вакутейнер для забора крови. Общий клинический анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы произведено в лаборатории НХЦ МЗ КР

Для статистической обработки полученных данных использовалась пакет компьютерной программы IBM SPSS 23.0. Проверку нормальности распределения количественных признаков проводили с использованием критерия Колмогорова - Смирнова. Для оценки статистической значимости различий при сравнении по количественному признаку – параметрические и непараметрические методы (ANOVA, критерий Краскала-Уоллеса), в качестве апостериорного критерия выбран критерий Тьюки. Выборочные параметры проводимые далее обозначены следующим образом: M — среднее, s (δ) — стандартное отклонение (квадратическое отклонение), n — объем анализируемой группы. Статистически достоверным критическим значением уровня значимости считался $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Так, в первые сутки после моделирования асептического воспаления в крови у животных установлено резкое снижение клеток лейкоцитарного пула.

В очаге воспаления отмечалась картина сильнейшего ожога мягких тканей и появление очагов некроза. По-видимому, введение скипидара для организма животных явилось сильным стрессогенным фактором, для мобилизации которого потребовалось определенное время.

Седьмые сутки исследования охарактеризовались увеличением общего содержания лейкоцитов, преимущественно за счет повышения лимфоцитов и нейтрофилов, что способствовало усилению воспалительной реакции у экспериментальных животных. Последний, четырнадцатый, срок исследования отмечен «угасанием» лейкоцитарной реакции крови, что могло свидетельствовать лишь о том, что воспаление находится на последней разрешающей стадии. Действительно, от гнойной инфильтрации тканей не оставалось и следа, поврежденная ткань оказалась полностью замещенной грануляционной тканью. Окружающая ткань оказалась без видимых повреждений.

В группах асептического воспаления лейкоцитоз по всем дням исследования был достоверно ниже, чем в группе гнойного воспаления (ГВ-Н). Так на 3-й день он составил $10,8 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$). В последующие дни отмечалось снижение данного показателя: на 7-ой день $11,3 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$, на 15-ый день $10,6 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), на 20-ый день $9,7 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) и к концу исследования он равен $9,2 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ (Рисунок 1.).

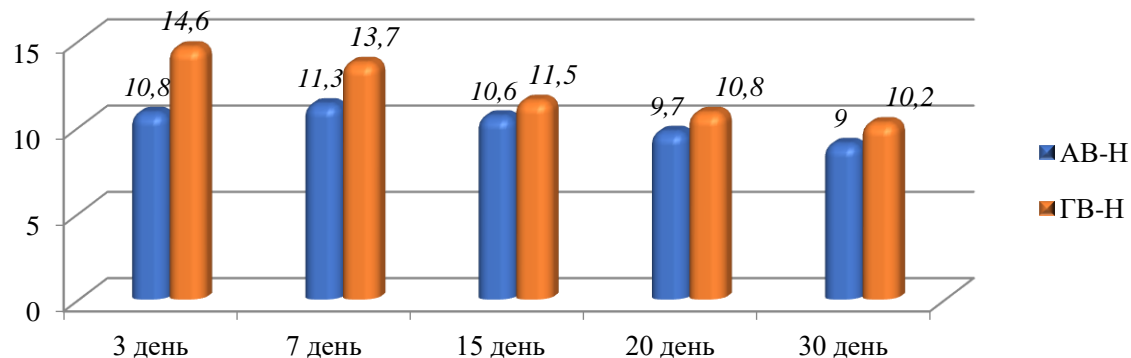


Рисунок 1. Количество лейкоцитов в группах серии г. Бишкек.

Количество лейкоцитов в группе гнойного воспаления (ГВ-Н) в первые дни исследования было выше и достоверно отличалось от групп асептического воспаления.

Так, на 3-й день лечения показатель был равен $14,6 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,005$), на 7-й день — $13,7 \pm 0,3 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,005$). Однако, в последующие дни количество лейкоцитов снизилось, и достоверно было выше, чем в группе асептического воспаления (АВ-Н). Так, на 15-й день — $11,5 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), на 20-й день — $10,8 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) и на 30-й день лечения $10,2 \pm 0,3 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

Из вышеизложенного следует заключить, что, инициированное скипидаром, асептическое воспаление без лечения переходит в стадию разгара на 7 сутки, тогда как к двухнедельному сроку исследования благодаря собственным защитным механизмам организма крыс завершается разрастанием грануляционной ткани. Однако следует отметить, что полного заживления раны без видимых признаков воспаления к этому сроку исследования не происходило.

В период деадаптации нами также была прослежена динамика изменения лейкоцитов и лейкоцитарной реакции крови. Так, на 3 и 7 дни наблюдения количество лейкоцитов у здоровых кроликов после 3-х дневного пребывания на высоте 3200 м над уровнем моря составило $11,4 \pm 0,09$ и $11,3 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$. Снижение количества лейкоцитов наблюдается в анализах, полученных на 15 и 20-ые сутки исследования, и составляло $10,8 \pm 0,1$ и $10,7 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$.

В начале исследования, на 3-е сутки наблюдения количество лейкоцитов в группе асептического воспаления в период деадаптации к высокогорью после 3-х дневного пребывания в горах (АВ-ДЗ) было равно $10,2 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

На 7-й день количество лейкоцитов в данной группе равно $11,4 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$, на 15-е сутки от момента начало исследования — $10,6 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$, на 20-е сутки снизилось до $9,8 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$, и на 30-е сутки равен $9,2 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), при этом данные были достоверно ниже, чем в остальных группах ($p < 0,05$).

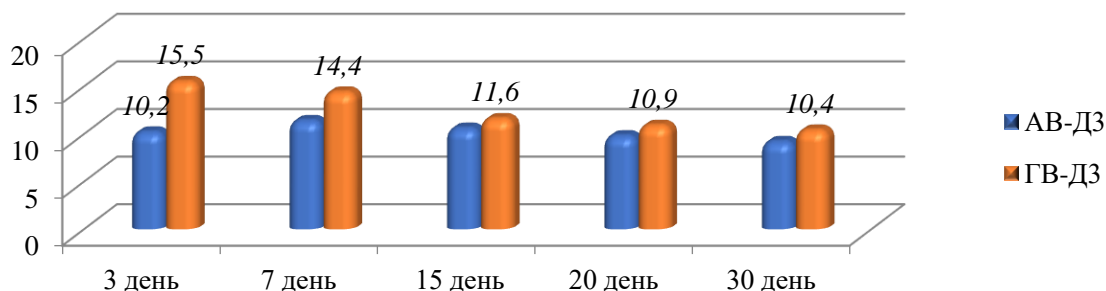


Рисунок 2. Количество лейкоцитов в группах серии деадаптации — 3 дня.

Так же как и в контрольной серии, во всех группах данной серии (период деадаптации после 3-х дневного пребывания в горах) в первые дни эксперимента отмечается сдвиг лейкоформулы влево.

Заключение

Анализ полученных лейкограмм показывает, что в группе гнойного воспаления в период деадаптации к высокогорью после кратковременного пребывания в горах на 3-е сутки исследования отмечается лейкоцитоз, где составил $15,5 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$ (Рисунок 2). В ходе исследования отмечено снижение данного показателя и на 7-й день эксперимента равен — $14,4 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), 15-й день — $11,6 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), 20-й день — $10,9 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), и на 30-й день не достигал нормы и равен был — $10,4 \pm 0,3 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

Список литературы:

1. Луцевич О. Э. Современные взгляды на патогенез и лечение гнойных ран // Хирургия. 2011. №5. С. 72-77.
2. Мохова О. С. Современные методы лечения гнойных ран // Журнал анатомии и гистопатологии. 2013. Т. 2. №4. С. 15-21.
3. Плотников Ф. В. Комплексное лечение пациентов с гнойными ранами в зависимости от способности микроорганизмов-возбудителей формировать биопленку // Новости хирургии. 2014. Т. 22. №5. С. 575-581. <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2014.5.575>
4. Блатун Л. А. Местное медикаментозное лечение ран // Хирургия. 2011. №4. С. 51-59.
5. Воронин А. С. Применение раневых покрытий в комплексном лечении ран и раневой инфекции кожи и мягких тканей // Аспирантский вестник Поволжья. 2010. №7-8. С. 158-161.
6. Толстов А. В. Новиков И. В. Подсевалова И. В. Анализ современных способов местной профилактики и лечения ограниченных ожогов в Самарском регионе // Известия Самарского научного центра Российской Академии наук. 2015. Т. 17. №5 (3). С. 879-882.
7. Войнов В. В., Вербицкий Е. В. Исследование сомнологических аспектов острой адаптации человека к высокогорью // Физиология человека. 2014. Т. 40. №6. С. 46-57. <https://doi.org/10.7868/S013116461405018X>
8. Илиаджиева Л. М., Мадаминава М. А. Состояние вкусового анализатора и его роль в адаптации организма человека к высокогорью // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. 2011. №4. С. 59-62.
9. Муратов Ж. К. Влияние высокогорных факторов на организм человека // Новое слово в науке: перспективы развития. 2016. №1-1 (7). С. 129-133.
10. Покровский М. П., Макарова М. С. Цитология раневого экссудата как показатель

процесса заживления. М.: Медгиз., 1942. С. 42.

References:

1. Lutsevich, O. E. (2011). Sovremennye vzglyady na patogenez i lechenie gnoinykh ran. *Khirurgiya*, (5), 72-77. (in Russian).
2. Mokhova, O. S. (2013). Sovremennye metody lecheniya gnoinykh ran. *Zhurnal anatomii i gistopatologii*, 2(4), 15-21. (in Russian).
3. Plotnikov, P. V. (2014). The multimodal treatment of patients with pyogenic wounds depending on the ability of microbial agents to form biofilm. *Novosti Khirurgii*, 22(5), 575-581. (in Russian). <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2014.5.575>
4. Blatun, L. A. (2011). Mestnoe medikamentoznoe lechenie ran. *Khirurgiya*, (4), 51-59. (in Russian).
5. Voronin, A. S. (2010). Primenenie ranevykh pokrytii v kompleksnom lechenii ran i ranevoi infektsii kozhi i myagkikh tkanei. *Aspirantskii vestnik Povolzh'ya*, (7-8), 158-161. (in Russian).
6. Tolstov, A. V. Novikov, I. V. & Podsevalova, I. V. (2015). Analiz sovremennykh sposobov mestnoi profilaktiki i lecheniya ogranichennykh ozhogov v Samarskom regione. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi Akademii nauk*, 17(5(3)), 879-882. (in Russian).
7. Voinov, V. V., & Verbitskii, E. V. (2014). Issledovanie somnologicheskikh aspektov ostroi adaptatsii cheloveka k vysokogor'yu. *Fiziologiya cheloveka*, 40(6), 46-57. (in Russian). <https://doi.org/10.7868/S013116461405018X>
8. Iliadzhieva, L. M., & Madaminova, M. A. (2011). Sostoyanie vkusovogo analizatora i ego rol' v adaptatsii organizma cheloveka k vysokogor'yu. *Vestnik KGMA im. I.K. Akhunbaeva*, (4), 59-62. (in Russian).
9. Muratov, Zh. K. (2016). Vliyanie vysokogornykh faktorov na organizm cheloveka. *Novoe slovo v nauke: perspektivy razvitiya*, (1-1 (7)), 129-133. (in Russian).
10. Pokrovskii, M. P., & Makarova, M. S. (1942). Tsitologiya ranevogo eksudata kak pokazatel' protsessa zazhivleniya. Moscow, 42. (in Russian).

*Работа поступила
в редакцию 16.10.2020 г.*

*Принята к публикации
21.10.2020 г.*

Ссылка для цитирования:

Ниязов Б. С., Мамакеев Ж. Б., Сабитов А. А., Маманов Н. Лейкоцитарный профиль у экспериментальных животных при моделировании раневого процесса в условиях низкогогорья и в период деадаптации к высокогорью // Бюллетень науки и практики. 2020. Т. 6. №11. С. 235-241. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/60/28>

Cite as (APA):

Niyazov, B., Mamakeev, Zh., Sabitov, A., & Mamanov, N. (2020). Leukocyte Profile in Experimental Animals in Modeling a Wound Process Under Low Altitude Conditions and in the Period of Deadaptation to High Altitude. *Bulletin of Science and Practice*, 6(11), 235-241. (in Russian). <https://doi.org/10.33619/2414-2948/60/28>