

*В. О. Шевченко <https://orcid.org/0009-0005-2546-9467>*

## НЕЙТРОФІЛЬНО-ЛІМФОЦИТАРНЕ ТА ЛІМФОЦИТАРНО-МОНОЦИТАРНЕ СПІВВІДНОШЕННЯ У ПЕРИФЕРИЧНІЙ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ВТОРИННО ХРОНІЧНОГО КАРАГІНАНОВОГО ЗАПАЛЕННЯ НА ТЛІ ВВЕДЕННЯ БЛОКАТОРА ТРОМБІНУ ДАБІГАТРАНУ ЕТЕКСИЛАТУ

Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

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

**В. О. Шевченко**

**НЕЙТРОФІЛЬНО-ЛІМФОЦИТАРНЕ ТА ЛІМФОЦИТАРНО-МОНОЦИТАРНЕ СПІВВІДНОШЕННЯ У ПЕРИФЕРИЧНІЙ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ВТОРИННО ХРОНІЧНОГО КАРАГІНАНОВОГО ЗАПАЛЕННЯ НА ТЛІ ВВЕДЕННЯ БЛОКАТОРА ТРОМБІНУ ДАБІГАТРАНУ ЕТЕКСИЛАТУ**

*Харківський національний медичний університет, Харків, Україна*

Нейтрофільно-лімфоцитарне та лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення мають прогностичне значення щодо динаміки перебігу запалення.

Результати проведеного експерименту з моделюванням вторинно хронічного карагінанового запалення на щурах показали, що застосування блокатора тромбіну – дабігатрану етексилату – впливає на перебіг вторинно хронічного карагінанового запалення, про що свідчать достовірні підвищення нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення на 14-ту добу в 3,1 рази,  $p < 0,05$  та лімфоцитарно-моноцитарного співвідношення на 28-му добу в 1,3 рази,  $p < 0,01$ .

**Ключові слова:** вторинно хронічне карагінанове запалення, нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення, лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення, периферична кров, дабігатрану етексилат.

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

**V. O. Shevchenko**

**NEUTROPHIL-TO-LYMPHOCYTE AND LYMPHOCYTE-TO-MONOCYTE RATIO IN THE PERIPHERAL BLOOD OF RATS WITH SECONDARY CHRONIC CARRAGEENAN INFLAMMATION AFTER ADMINISTRATION OF THE THROMBIN BLOCKER DABIGATRAN ETEXILATE**

*Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine*

**Introduction.** Neutrophil-lymphocyte and lymphocyte-monocyte ratios determine the activity of the inflammatory process and are widely used as prognostic criteria for the development of various diseases and the rate of wound healing. The lymphocyte-monocyte ratio, along with the levels of proinflammatory cytokines in peripheral blood, can be reliably used to predict the course of chronic inflammation.

**Objective.** To determine neutrophil-lymphocyte and lymphocyte-monocyte ratios in the peripheral blood of rats with secondary chronic carrageenan inflammation after administration of the thrombin blocker – dabigatran etexilate.

**Materials and methods.** The experimental study was conducted on 72 adult male WAG rats weighing 180–200 g. The model of inflammation was a secondary chronic aseptic inflammation induced by intramuscular injection of 10 mg of  $\lambda$ -carrageenan (Sigma, USA) into the thigh area. Dabigatran etexilate was administered intragastrically through a gavage tube at a dose of 15 mg/kg/day daily throughout the experiment. The neutrophil-lymphocyte and lymphocyte-monocyte ratio in the peripheral blood was studied on days 1, 7, 14, 21, and 28 of the experiment.

**Results.** When comparing the neutrophil-lymphocyte ratio in secondary chronic carrageenan inflammation after administration of dabigatran etexilate with that in the natural course of inflammation, a significant increase in it was observed on day 14 by 3.1 times,  $p < 0,05$ , and the lymphocyte-monocyte ratio significantly increased on day 28 by 1.3 times,  $p < 0,01$ .

**Conclusion.** The data obtained indicates a positive dynamic of the course of secondary chronic carrageenan inflammation after administration of dabigatran etexilate in comparison with its natural course.

**Key words:** secondary chronic carrageenan inflammation, neutrophil-to-lymphocyte ratio, lymphocyte-to-monocyte ratio, peripheral blood, dabigatran etexilate.

**Вступ.** Запалення є важливим патофізіологічним компонентом багатьох хронічних захворювань, включаючи серцево-судинні та кишкові захворювання, діабет, артрит і рак [1]. Процеси запальної відповіді залежать від етіологічного чинника та його локалізації в організмі та мають спільний механізм, який полягає в тому, що рецептори клітинної поверхні розпізнають шкідливі стимули; активуються запальні шляхи; вивільняються маркери запалення та відбувається рекрутування запальних клітин.

Важливими мікроциркуляторними подіями, що відбуваються під час запального процесу, є зміни проникності судин, рекрутування та накопичення лейкоцитів і вивільнення медіаторів запалення [2].

Співвідношення нейтрофілів та лімфоцитів, а також лімфоцитів та моноцитів визначають активність перебігу запального процесу та широко використовуються у сьогоденні як прогностичні критерії розвитку різних захворювань. Дослідниками показано, що збільшення кількості нейтрофілів разом зі зменшенням кількості лімфоцитів є чіткою ознакою запалення. Серед усіх показників периферичної крові саме нейтрофільно-

© В. О. Шевченко, 2023

Стаття поширюється на умовах ліцензії



лімфоцитарне та лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення мають прогностичне значення щодо швидкості загоєння ранового процесу.

Відношення нейтрофілів до лімфоцитів є біомаркером, що об'єднує дві сторони імунної системи: вроджену імунну відповідь, головним чином за рахунок нейтрофілів, та адаптивний імунітет, який підтримують лімфоцити [3]. Нейтрофіли відповідальні за першу лінію імунної відповіді проти патогенів, що вторгаються, за допомогою різних механізмів, включно з хемотаксисом, фагоцитозом, вивільненням активних форм кисню, гранулярних білків, а також продукуванням та вивільненням цитокінів [4]. Нейтрофіли також відіграють важливу регуляторну роль в адаптивному імунітеті та є основними ефекторними клітинами за синдрому системної запальної відповіді.

Ізольоване підвищення числа нейтрофілів і, як наслідок, підвищення нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення може спостерігатися за низки станів: бактеріальної або грибової інфекції, гострого інсульту, інфаркту міокарда, атеросклерозу, тяжкої травми, раку, післяопераційних ускладнень і будь-якого стану, що характеризується пошкодженням тканин, яке активує розвиток синдрому системної запальної відповіді. Це пов'язано з тим, що початок перебігу запалення характеризується прозапальним станом, опосередкованим нейтрофілами та іншими запальними клітинами. Синдром системної запальної відповіді пов'язаний із пригніченням апоптозу нейтрофілів [5].

Лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення поряд із рівнями прозапальних цитокінів периферичної крові може достовірно використовуватися для прогнозування перебігу хронічного запалення, а також для низки хвороб, передумовою для яких є хронічний запальний процес [6, 7, 8]. Тому дослідження вищезазначених співвідношень для поглиблення знань про загальні механізми хронізації запалення є вельми актуальним.

**Мета дослідження** – встановити нейтрофільно-лімфоцитарне та лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення у периферичній крові щурів за вторинно хронічного карагінанового запалення на тлі введення блокатора тромбіну – дабігатрану етексилату.

**Матеріали та методи дослідження.** 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 принципів Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах.

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 шля-

хом внутрішньом'язового введення в ділянку правого стегна 10 мг  $\lambda$ -карагінану (Sigma, США), розчиненого в 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду [9].

Дабігатрану етексилат вводили внутрішньошлунково через зонд у дозі 15 мг/кг/добу розчиненим в 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду щодня протягом усього експерименту [10, 11].

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 внутрішньоочередно в дозі 40–50 мг/кг контрольним групам щурів, а також експериментальним групам щурів на 1-шу, 7-му, 14-ту, 21-шу і 28-му доби проведення експерименту [12, 13].

Досліджували нейтрофільно-лімфоцитарне та лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення у периферичній крові на 1-шу, 7-му, 14-ту, 21-шу і 28-му доби проведення експерименту.

Дослідження лейкоцитарної реакції крові проводили на гематологічному аналізаторі Micros 60 C+, АВХ, Ногіба, Франція.

Відношення нейтрофілів до лімфоцитів розраховували як просте співвідношення між абсолютною кількістю нейтрофілів і лімфоцитів, підрахованих у периферичній крові.

Відношення лімфоцитів до моноцитів також розраховували як просте співвідношення між абсолютною кількістю лімфоцитів і моноцитів, підрахованих у периферичній крові.

Ведення банку даних та їх опрацювання здійснювали за допомогою програми «Microsoft Excel 2019». Статистичне опрацювання даних передбачало розрахунок середнього арифметичного (М) для опису центральної закономірності, стандартної похибки середнього (m) для характеризування варіативності ознаки та визначення статистичної значущості різниці з використанням t-тесту Стьюдента [14]. При значеннях  $p < 0,05$  різницю розцінювали як статистично значущу.

**Результати дослідження та їх обговорення.** За природного перебігу запалення нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення протягом експерименту не відрізняється від контролю; спостерігається фазність змін цього співвідношення: достовірно знижується на 7-му добу порівняно з 1-ою добою в 4,39 раза,  $p < 0,05$ , достовірно підвищується на 14-ту добу порівняно із 7-ою добою в 3,2 раза,  $p < 0,001$  і також достовірно підвищується на 21-шу добу порівняно з 14-ою добою в 1,78 раза,  $p < 0,05$  (табл. 1).

За вторинно хронічного карагінанового запалення на тлі введення дабігатрану етексилату спостерігається достовірне зменшення нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення на 7-му добу в 5,5 раза,  $p < 0,001$ , а також достовірне збільшення на 14-ту добу в 2,2 раза,  $p < 0,05$  і на 28-му добу в 2,2 раза,  $p < 0,001$  порівняно з контролем (табл. 2).

Таблиця 1

**Лімфоцитарно-моноцитарне та нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення у периферичній крові щурів у динаміці природнього перебігу карагінанового вторинно хронічного запалення, (M ± m, n = 6)**

Терміни дослідження	Лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення	Нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення
Контроль	9.491±1.577	0.776±0.370
1 доба	12.315±1.671	0.527±0.120
7 доба	6.048±0.380*^^	0.120±0.033^^
14 доба	7.782±0.616^	0.384±0.019^^^
21 доба	6.156±1.088	0.684±0.149^
28 доба	5.377±0.306*	0.717±0.175

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

Таблиця 2

**Лімфоцитарно-моноцитарне та нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення у периферичній крові щурів у динаміці карагінанового вторинно хронічного запалення на тлі введення дабігатрану етексилату, (M ± m, n = 6)**

Терміни дослідження	Лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення	Нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення
Контроль	4.673±1.062°	0.537±0.083
1 доба	13.689±0.548***	0.676±0.047
7 доба	5.690±0.488^^^	0.098±0.003***^^^
14 доба	4.652±0.982°	1.183±0.330*^^°
21 доба	6.797±1.098	0.428±0.091^
28 доба	7.081±0.278°	1.169±0.091***^^^

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

На 7-му добу порівняно з 1-ою добою відмічається достовірне зменшення нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення в 6,9 раза, p<0,001. На 14-ту добу спостерігається достовірне підвищення порівняно із 7-ою

добою в 12 разів, p<0,01, на 21-шу добу достовірне зменшення порівняно з 14-ою добою в 2,8 раза, p<0,05, а на 28-му добу спостерігається достовірне збільшення нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення порівняно з 21-ою добою в 2,8 раза, p<0,001. Такі дані свідчать про фазні зміни нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення, що, мабуть, пов'язане зі зменшенням інтенсивності хронічного запалення на тлі введення блокатора тромбіна.

При порівнянні нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення за вторинно хронічного карагінанового запалення на тлі введення дабігатрану етексилату та за природнього хронічного запалення спостерігається достовірне його підвищення на 14-ту добу в 3,1 раза, p<0,05; і до завершення експеримента це співвідношення достовірно не відрізнялось від такого за природнього хронічного запалення, хоча спостерігалися фазні зміни нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення в бік зменшення на 21-шу добу і незначного збільшення на 28-му добу, що свідчить про позитивну динаміку перебігу хронічного запалення на тлі введення блокатора тромбіна.

За вторинно хронічного карагінанового запалення спостерігалась тенденція підвищення лімфоцитарно-моноцитарного співвідношення на 1-шу добу в 1,3 раза порівняно з контролем, а на 7-му та 28-му доби достовірно знижувалось в 1,6 раза і 1,7 раза відповідно, p<0,05. На 7-му добу порівняно з 1-ою добою спостерігається достовірне зменшення лімфоцитарно-моноцитарного співвідношення в 2,0 рази, p<0,01, на 14-ту добу достовірне збільшення в порівнянні з 7-ою добою в 1,3 раза, p<0,05.

За вторинно хронічного карагінанового запалення на тлі введення дабігатрану етексилату лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення у периферичній крові достовірно підвищувалось на 1-шу добу порівняно з контролем в 2,98 раза, p<0,001 і до завершення експерименту статистично не відрізнялось від контролю. На 7-му добу спостерігалось достовірне зменшення порівняно з 1-ою добою в 2,4 раза, p<0,001.

При порівнянні лімфоцитарно-моноцитарного співвідношення за вторинно хронічного карагінанового запалення на тлі введення дабігатрану етексилату та за природнього перебігу запалення спостерігалось достовірне зменшення його на 14-ту добу в 1,7 раза, p<0,05 і достовірне збільшення на 28-му добу в 1,3 раза, p<0,01, що свідчить про зменшення хронізації запалення на тлі введення блокатора тромбіна.

**Висновки.** Таким чином, при порівнянні нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення за вторинно хронічного карагінанового запалення на тлі введення дабігатрану етексилату з таким за природнього перебігу хронічного запалення спостерігалось достовірне його підвищення на 14-ту добу в 3,1 раза, p<0,05, а лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення достовірно збільшувалося на 28-му добу в 1,3 раза, p<0,01, що свідчить про позитивну динаміку перебігу вторинно хронічного карагінанового запалення на тлі введення блокатора тромбіну – дабігатрану етексилату.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev.* 2007;65(12Pt2):140-146. doi: 10.1111/j.1753-4887.2007.tb00352.x. PMID: 18240538.
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): 227-235. doi: 10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x. PMID: 17223962; PMCID: PMC1810472.
3. Song M, Graubard BI, Rabkin CS, Engels EA. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and mortality in the United States general population. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 464. doi: 10.1038/s41598-020-79431-7. PMID: 33431958; PMCID: PMC7801737.
4. Mortaz E, Alipoor SD, Adcock IM, Mumby S, Koenderman L. Update on Neutrophil Function in Severe Inflammation. *Front Immunol.* 2018;9:2171. doi: 10.3389/fimmu.2018.02171. PMID: 30356867; PMCID: PMC6190891.
5. Lowsby R, Gomes C, Jarman I, et al. Neutrophil to lymphocyte count ratio as an early indicator of blood stream infection in the emergency department. *Emerg Med J.* 2015; 32(7): 531-534. doi: 10.1136/emered-2014-204071. Epub 2014 Sep 2. PMID: 25183249.
6. Lee JS, Kim NY, Na SH, Youn YH, Shin CS. Reference values of neutrophil-lymphocyte ratio, lymphocyte-monocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio, and mean platelet volume in healthy adults in South Korea. *Medicine (Baltimore).* 2018; 97(26): e11138. doi: 10.1097/MD.00000000000011138. PMID: 29952958; PMCID: PMC6039688.
7. Sierzega M, Lenart M, Rutkowska M, et al. Preoperative Neutrophil-Lymphocyte and Lymphocyte-Monocyte Ratios Reflect Immune Cell Population Rearrangement in Resectable Pancreatic Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2017; 24(3): 808-815. doi: 10.1245/s10434-016-5634-0. Epub 2016 Oct 21. PMID: 27770341; PMCID: PMC5306070.
8. Shibutani M, Maeda K, Nagahara H, Iseki Y, Ikeya T, Hirakawa K. Prognostic significance of the preoperative lymphocyte-to-monocyte ratio in patients with colorectal cancer. *Oncol Lett.* 2017;13(2):1000-1006. doi: 10.3892/ol.2016.5487. Epub 2016 Dec 12. PMID: 28356991; PMCID: PMC5351160.
9. Radhakrishnan R, Moore SA, Sluka KA. Unilateral carrageenan injection into muscle or joint induces chronic bilateral hyperalgesia in rats. *Pain.* 2003;104(3): 567-577. doi: 10.1016/S0304-3959(03)00114-3. PMID: 12927629; PMCID: PMC2732018.
10. 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.
11. Durmaz S, Kurtoğlu T, Rahman ÖF, et al. 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): 184-191. doi: 10.5606/tgkdc.dergisi.2022.22831. PMID: 36168569; PMCID: PMC9473587.
12. Vogler GA. Anesthesia and Analgesia. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editors. *The Laboratory Rat.* 2nd ed. Burlington (MA): Academic Press; 2006. Chapter 19. p. 627-664. doi: 10.1016/B978-012074903-4/50022-4.
13. Abdi-Azar H, Abbasi-Maleki S. Comparison of the anesthesia with thiopental sodium alone and their combination with *Citrus aurantium L.* (Rutaceae) essential oil in male rat. *Bull Env Pharmacol Life Sci.* 2014; 3: 37-44.
14. 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): 407-411. doi: 10.4103/aca.ACA\_94\_19. PMID: 31621677; PMCID: PMC6813708.

Надійшла до редакції 20.12.2023 р.

Прийнята до друку 26.12.2023 р.

Електронна адреса для листування [voshevchenko.po21@kntu.edu.ua](mailto:voshevchenko.po21@kntu.edu.ua)