

**ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ СИСТЕМНОГО ОТВЕТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ
МОДЕЛЯХ СПАЕЧНОГО ПРОЦЕССА БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ**

Хайдаров Фаррух Нурутдинович - к.м.н., Бухарский филиал Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи.

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-4402-6259> e-mail: doctor_farrukh@mail.ru

Хамдамов Бахтиёр Зарифович - д.м.н., профессор, заведующий кафедрой факультетской, госпитальной хирургии и урологии, Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сино.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3569-6688> e-mail: dr.hamdamov@mail.ru

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57221665311>

Аннотация. Формирование спаек в брюшной полости представляет собой не только локальный морфологический процесс, но и сопровождается изменениями в системных звеньях регуляции. Местная воспалительная реакция и перестройка соединительной ткани тесно связаны с активностью цитокинового профиля, балансом факторов фибринолиза и коагуляции, а также с экспрессией генов, регулирующих метаболизм межклеточного матрикса. Проведенные исследования цитокинового профиля показало, что у животных контрольной серии значения IL-6, TGF- β 1, IL-10 и VEGF оставались стабильными и не выходили за пределы физиологических колебаний, в сравнительной серии наблюдался умеренный рост провоспалительных и фиброгенных маркеров при одновременном снижении противовоспалительной активности, тогда как в основной серии опытов выявлялось значительное и стойкое повышение IL-6, TGF- β 1 и VEGF при одновременном снижении уровня IL-10, что отражало интенсивный воспалительный и фиброзирующий характер системного ответа, сопровождающий формирование грубых спаек.

Ключевые слова: экспериментальные исследования, спаечный процесс, брюшная полость, системный ответ, цитокины

Abstract. The formation of adhesions in the abdominal cavity is not just a local morphological process, but also comes with changes in systemic regulatory pathways. The local inflammatory response and restructuring of connective tissue are closely linked to cytokine activity, the balance of fibrinolysis and coagulation factors, and the expression of genes that regulate extracellular matrix metabolism. Studies of the cytokine profile showed that in the control animals, IL-6, TGF- β 1, IL-10, and VEGF levels stayed stable and within normal ranges. In the comparative group, there was a moderate increase in pro-inflammatory and fibrogenic markers along with a decrease in anti-inflammatory activity. In contrast, the main experimental group showed a significant and persistent rise in IL-6, TGF- β 1, and VEGF with a simultaneous drop in IL-10, reflecting a strong inflammatory and fibrotic systemic response, accompanying the formation of dense adhesions.

Keywords: experimental studies, adhesion process, abdominal cavity, systemic response, cytokines

Izohlar. Qorin bo'shlig'idagi yopishqoqliklar nafaqat mahalliy morfologik jarayon, balki regulatsiya tizimlaridagi o'zgarishlar bilan ham bog'liq. Mahalliy yallig'lanish reaksiyasi va birikma to'qimasining qayta tuzilishi sitokin profili faolligi, fibrinoliz va qon quyilishi faktorlarining muvozanati hamda hujayralararo matritsa metabolizmini nazorat qiluvchi genlarning ifodasi bilan chambarchas bog'liq. O'tkazilgan sitokin profili tadqiqotlari shuni ko'rsatdiki, nazorat guruhidagi hayvonlarda IL-6, TGF- β 1, IL-10 va VEGF ko'rsatkichlari

barqaror bo'lib, fiziologik o'zgarishlar doirasidan chiqmagan, taqqoslash guruhida esa provovinflamatori va fibrogen markerlarning o'rtacha o'sishi kuzatilgan, shu bilan birga antiinflamator faollik kamaygan, asosiy tajriba guruhida esa IL-6, TGF- β 1 va VEGF sezilarli va barqaror oshishi, IL-10 darajasining esa pasayishi aniqlandi, bu esa tizimli javobning kuchli yallig'lanish va fibroz xarakterini, qattiq yopishmalar hosil bo'lishini aks ettirgan.

Kalit so'zlar: tajribaviy tadqiqotlar, yopishqoqlik jarayoni, qorin bo'shlig'i, tizimli javob, sitokinlar

Актуальность. Формирование спаек в брюшной полости представляет собой не только локальный морфологический процесс, но и сопровождается изменениями в системных звеньях регуляции. Местная воспалительная реакция и перестройка соединительной ткани тесно связаны с активностью цитокинового профиля, балансом факторов фибринолиза и коагуляции, а также с экспрессией генов, регулирующих метаболизм межклеточного матрикса.

Особое значение имеет выявление иммунологических и биохимических показателей, коррелирующих с типом формирующихся спаек, что создает предпосылки для разработки прогностических маркеров течения СББП, которые в клинической практике могут быть определены без необходимости морфологической верификации. Включение молекулярно-генетических исследований позволяет расширить представления о патогенезе адгезионного процесса, установить механизмы экспрессии коллагенов, факторов ремоделирования и ингибиторов фибринолиза.

Целью исследования было комплексное изучение сывороточных иммунологических, биохимических и генетических показателей при развитии различных моделей СП в динамике, что дает возможность проследить взаимосвязь локальных тканевых изменений и системных реакций организма.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 140 белых лабораторных крысах линии Вистар обоего пола, массой 300-400 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария Бухарского государственного медицинского института, получали обычный рацион без ограничений и имели свободный доступ к воде. Все крысы были распределены на 4 серии по 35 особей.

В первую серию вошли интактные животные, не подвергавшиеся каким-либо вмешательствам. Их данные использовались как референсные значения.

Во второй серии была выполнена ложная операция, для чего под общей анестезией кетамин (75 мг/кг) в асептических условиях выполняли срединную лапаротомию длиной около 2 см, визуальный осмотр органов брюшной полости и ушивание всех слоев передней брюшной стенки узловыми швами. Операции не сопровождались травмой серозного покрова кишечника, что позволяло оценивать лишь реакцию на операционный доступ.

Третья серия предназначалась для моделирования рыхлого морфологического типа СП. После лапаротомии в брюшную полость вводили 3 мл свежего сгустка аутокрови животных, полученной из хвостовой вены животного. Сгусток равномерно размещали между петлями тонкой кишки. После этого лапаротомную рану ушивали через все слои. Такая методика воспроизводила асептический фибринозный перитонит с последующим формированием рыхлых соединительнотканых перемычек.

В четвертой, основной серии воспроизводили плотный морфологический тип СП. После лапаротомии в рану выводили кишечника и при помощи сухой стерильной марлевой салфетки многократно протирали серозный покров от двенадцатиперстной кишки до участка, расположенного на 9-10 см от слепой кишки, до появления капиллярного кровотечения. Таким образом достигалось механическое десерозирование

серозной оболочки кишечника. После завершения манипуляции кишечник возвращали в брюшную полость, а рану ушивали двухрядным узловым швом. Данный способ воспроизводил условия для образования плотных зрелых спаек, сходных с клинически значимой формой заболевания.

Забор крови для иммунологических, биохимических и молекулярно-генетических исследований проводили в фиксированные сроки - на 1, 3 и 6 месяцев после моделирования патологического процесса. Кровь получали из сердца животного в условиях общей анестезии непосредственно перед эвтаназией. Эвтаназию выполняли методом передозировки кетамина в соответствии с международными рекомендациями гуманного обращения с лабораторными животными.

Все процедуры проводились с соблюдением правил асептики и антисептики. Протокол исследований был рассмотрен и одобрен Биоэтическим комитетом Министерства здравоохранения Республики Узбекистан. Обращение с животными соответствовало положениям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и иных научных целях, а также «Правилам гуманного обращения с лабораторными животными».

Результаты и обсуждение. Формирование спаек в брюшной полости сопровождается активацией множества сигнальных медиаторов, определяющих направление воспалительной реакции и последующей перестройки соединительной ткани. Среди них особое значение приобретают IL-6, TGF- β 1, IL-10 и VEGF, так как именно они определяют баланс между воспалением, фиброгенезом и ангиогенезом. Динамическое исследование их содержания в сыворотке крови у животных контрольной, сравнительной и основной серий позволяет оценить особенности системного ответа организма на различные варианты повреждения серозной оболочки.

При исследовании уровня IL-6 в сыворотке крови животных были выявлены различия как во времени наблюдения, так и между сериями опытов. В контрольной серии показатели оставались стабильными и колебались в пределах физиологической нормы, не превышая $18,4 \pm 2,1$ пг/мл на 1 месяце и $18,2 \pm 2,0$ пг/мл к 6 месяцу, что отражало отсутствие выраженного системного воспалительного ответа (табл.1).

Таблица 1. Динамика изменений уровня IL-6 (пг/мл) в сыворотке крови животных с различными экспериментальными моделями формирования СП

Серии опытов	Динамика формирования СП (месяцы)		
	1	3	6
Контрольная	$18,4 \pm 2,1$	$17,9 \pm 1,8$	$18,2 \pm 2,0$
Сравнительная	$26,7 \pm 2,5^{*\Delta}$	$31,2 \pm 3,1^{*\Delta}$	$28,5 \pm 2,9^*$
Основная	$35,9 \pm 3,0^{*\#\Delta}$	$44,6 \pm 3,8^{*\#\Delta}$	$41,7 \pm 3,5^{*\#}$

Примечание: * - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к контрольной серии опытов; # - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к сравнительной серии опытов; Δ - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к данным 1 месяца.

В сравнительной серии, где моделировались рыхлые спайки, уже на 1 месяце уровень IL-6 достоверно превышал контрольные значения ($p < 0,05$). К 3 месяцу отмечалось дальнейшее нарастание концентрации цитокина до $31,2 \pm 3,1$ пг/мл, что также было статистически значимо по сравнению с исходным сроком ($p < 0,05$). На 6 месяце показатель несколько снижался до $28,5 \pm 2,9$ пг/мл, оставаясь при этом выше контрольной группы ($p < 0,05$), что указывало на умеренную, но стойкую активацию воспалительного каскада.

Наиболее выраженные изменения зарегистрированы в основной серии опытов, где формировались грубые спайки, в частности уже через 1 месяц уровень IL-6 составил $35,9 \pm 3,0$ пг/мл, что было достоверно выше как контрольной, так и сравнительной серии

($p < 0,05$). К 3 месяцу концентрация IL-6 достигла максимальных значений, что значительно превышало показатели как контрольной, так и сравнительной групп ($p < 0,05$), а также было достоверно выше по сравнению с 1 месяцем наблюдения ($p < 0,05$). К 6 месяцу уровень цитокина несколько снижался, составляя $41,7 \pm 3,5$ пг/мл, однако оставался достоверно повышенным относительно обеих серий сравнения ($p < 0,05$).

Таким образом, динамика IL-6 четко разграничивала экспериментальные модели, а именно в контрольной серии показатель оставался стабильным, в сравнительной серии отмечался умеренный рост с последующей стабилизацией, а в основной серии наблюдалось резкое и стойкое повышение, сохранявшееся на протяжении всего срока эксперимента.

Изучение концентрации TGF- β 1 в сыворотке крови показало закономерное усиление фиброгенного ответа у животных сравнительной и основной серий при относительной стабильности показателя в контрольной группе. В контрольной серии опытов значения оставались в пределах физиологических колебаний и особой достоверной динамики по сравнению с исходным сроком нами не отмечено, что указывает на завершение репаративных процессов без признаков фиброзной перестройки (табл.2).

Таблица 2. Динамика изменений уровня TGF- β 1 (пг/мл) в сыворотке крови животных с различными экспериментальными моделями формирования СП

Серии опытов	Динамика формирования СП (месяцы)		
	1	3	6
Контрольная	$92,1 \pm 7,4$	$95 \pm 8,2$	$94,2 \pm 7,6$
Сравнительная	$128,3 \pm 10,1^{*\Delta}$	$152,5 \pm 11,7^{*\Delta}$	$147,2 \pm 12^*$
Основная	$164,7 \pm 12,4^{*\#\Delta}$	$201,3 \pm 15,6^{*\#\Delta}$	$195,8 \pm 14,9^{*\#}$

Примечание: * - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к контрольной серии опытов; # - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к сравнительной серии опытов; Δ - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к данным 1 месяца.

Совсем иная картина наблюдалась в сравнительной серии, где уже через 1 месяц уровень TGF- β 1 достоверно превышал контрольные значения ($p < 0,05$). К 3 месяцу концентрация TGF- β 1 продолжала увеличиваться, что было значимо выше как по сравнению с контролем, так и по отношению к 1 месяцу ($p < 0,05$). К 6 месяцу наблюдалась тенденция к снижению концентрации TGF- β 1 до $147,2 \pm 12,0$ пг/мл, однако показатель оставался достоверно выше контрольного уровня ($p < 0,05$). Такая динамика свидетельствовала о сохранении умеренной активации фиброгенеза при относительно низкой интенсивности процесса.

В основной серии опытов концентрация TGF- β 1 была значительно выше, чем в остальных группах. Уже на 1 месяце ее уровень достигал $164,7 \pm 12,4$ пг/мл, что статистически достоверно превышало значения контрольной и сравнительной серий ($p < 0,05$). На 3 месяце концентрация возрастала до $201,3 \pm 15,6$ пг/мл, и различия с контролем и сравнительной серией сохраняли статистическую значимость ($p < 0,05$). Более того, показатели этого срока были достоверно выше уровня 1 месяца ($p < 0,05$), что указывало на нарастание активности фиброгенеза. К 6 месяцу концентрация снижалась до $195,8 \pm 14,9$ пг/мл, но оставалась достоверно выше значений контрольной и сравнительной серий ($p < 0,05$).

Таким образом, динамика TGF- β 1 четко разграничивала экспериментальные модели в таком порядке, как в контрольной серии данный показатель сохранялся на стабильном уровне, в сравнительной отмечался умеренный рост с пиком на 3 месяце, а в основной серии регистрировалось резкое и стойкое повышение, достигавшее максимальных значений к 3 месяцам и сохранявшееся высоким к концу эксперимента.

При анализе динамики изменения IL-10 в сыворотке крови животных были выявлены различия между сериями опытов, отражающие характер иммунорегуляторного ответа. В контрольной серии показатели оставались стабильными на всем протяжении проведенного исследования. Колебания носили случайный характер и не имели статистической значимости, что соответствует физиологическому уровню противовоспалительной активности (табл.3).

Таблица 3. Динамика изменений уровня IL-10 (пг/мл) в сыворотке крови животных с различными экспериментальными моделями формирования СП

Серии опытов	Динамика формирования СП (месяцы)		
	1	3	6
Контрольная	24,6±2,2	25,4±2,3	24,8±2,1
Сравнительная	22,8±2	20,6±1,9*Δ	21,1±1,8*
Основная	18,9±1,7*#Δ	16,2±1,6*#Δ	15,8±1,5*#

Примечание: * - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к контрольной серии опытов; # - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к сравнительной серии опытов; Δ - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к данным 1 месяца.

В сравнительной серии опытов, где формировались рыхлые спайки, содержание IL-10 было близким к контрольным значениям на 1 месяце и различия статистически были недостоверны. Однако к 3 месяцу отмечалось достоверное снижение концентрации до 20,6±1,9 пг/мл по сравнению с уровнем 1 месяца ($p < 0,05$), а также относительно контрольной серии ($p < 0,05$). На 6 месяце уровень IL-10 несколько повышался до 21,1±1,8 пг/мл, однако оставался достоверно ниже контрольных значений ($p < 0,05$). Таким образом, у животных данной серии наблюдалась тенденция к снижению противовоспалительного потенциала, но выраженность изменений оставалась умеренной.

В основной серии опытов снижение IL-10 оказалось более выраженным, устойчивым и уже на 1 месяце концентрация составила 18,9±1,7 пг/мл, что было достоверно ниже контрольной серии и сравнительной группы ($p < 0,05$). К 3 месяцу уровень снижался до 16,2±1,6 пг/мл, различия сохраняли статистическую значимость ($p < 0,05$), а также отмечалось уменьшение по сравнению с первым месяцем ($p < 0,05$). К 6 месяцу IL-10 оставался низким, что достоверно отличалось как от контрольной, так и от сравнительной серий ($p < 0,05$).

Таким образом, в контрольной серии опытов IL-10 оставался стабильным, в сравнительной серии отмечалось умеренное снижение к 3-6 месяцам, а в основной серии регистрировалось значительное и устойчивое уменьшение концентрации на всем протяжении эксперимента, что указывает на ослабление противовоспалительного звена при формировании грубых спаек.

При оценке уровня VEGF, отражающего ангиогенную активность, выявлены выраженные различия между сериями опытов, особенно заметные на поздних сроках. В контрольной серии концентрация VEGF оставалась стабильной и не выходила за пределы физиологической нормы. Достоверных изменений по времени наблюдения не установлено, что соответствует отсутствию стимулированного неоангиогенеза (табл.4).

Таблица 4. Динамика изменений уровня VEGF (пг/мл) в сыворотке крови животных с различными экспериментальными моделями формирования СП

Серии опытов	Динамика формирования СП (месяцы)		
	1	3	6
Контрольная	42,5±4,1	44,1±4,3	43,7±4,2
Сравнительная	58,2±5,2*Δ	64,9±5,7*Δ	62,3±5,4*
Основная	79,5±6,8*#Δ	96,8±7,9*#Δ	93,1±7,5*#

Примечание: * - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к контрольной серии опытов; # - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к сравнительной серии опытов; Δ - $p < 0,05$ – статистически значимо по отношению к данным 1 месяца.

В сравнительной серии уровень VEGF уже на 1 месяце был достоверно выше контрольных значений ($p < 0,05$). К третьему 3 концентрация увеличивалась до $64,9 \pm 5,7$ пг/мл, что также было значимо выше как по сравнению с контролем ($p < 0,05$), так и относительно исходного срока ($p < 0,05$). На 6 месяце уровень снижался до $61,3 \pm 5,4$ пг/мл, но сохранял статистически значимые различия с контрольной серией ($p < 0,05$). Такая динамика отражала умеренный и ограниченный ангиогенный ответ при формировании рыхлых соединительнотканых перемычек.

Совершенно иная картина наблюдалась в основной серии опытов, где уже через 1 месяц уровень VEGF достоверно превышал показатели контрольной и сравнительной серий ($p < 0,05$). К 3 месяцу регистрировался максимум концентрации, а различия с контрольной и сравнительной сериями сохраняли высокую статистическую значимость ($p < 0,05$). Также данный показатель достоверно увеличивался по сравнению с первым сроком ($p < 0,05$) исследования. К 6 месяцу VEGF оставался на высоком уровне и достоверно превышал значения обеих групп сравнения ($p < 0,05$).

Таким образом, VEGF в контрольной серии оставался неизменным, в сравнительной серии фиксировался умеренный рост с пиком на 3 месяце, а в основной серии наблюдалось выраженное и стойкое повышение, отражающее интенсивный и продолжительный ангиогенный процесс, сопутствующий формированию зрелых плотных спаек.

Выводы. Таким образом, исследование цитокинового профиля показало, что у животных контрольной серии значения IL-6, TGF- β 1, IL-10 и VEGF оставались стабильными и не выходили за пределы физиологических колебаний, в сравнительной серии наблюдался умеренный рост провоспалительных и фиброгенных маркеров при одновременном снижении противовоспалительной активности, тогда как в основной серии опытов выявлялось значительное и стойкое повышение IL-6, TGF- β 1 и VEGF при одновременном снижении уровня IL-10, что отражало интенсивный воспалительный и фиброзирующий характер системного ответа, сопровождающий формирование грубых спаек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лазаренко В. А. К вопросу о роли иммунной системы в развитии СП брюшной полости: обзор литературы // Российский иммунологический журнал. – 2020. – Т. 14. - № 2. – С. 155–163.
2. Измайлов А.Г. и соавт. Рациональная антибиотикотерапия у пациентов с ОСКН в послеоперационном периоде // Современная медицина. – 2016. – № 2(2). – С. 99–101.
3. Соколов С.В. и соавт. Вероятность развития СКН после различных операций на органах брюшной полости // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2021. – Т. 11. - № 1. – С. 135.
4. Соколов С.В. и соавт. Встречаемость СКН после операций по поводу аппендицита и аппендикулярного перитонита // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2021. – Т. 11. - № 1. – С. 136.
5. Becker J.M., Dayton M.T. Prevention of postoperative abdominal adhesions // Journal of the American College of Surgeons. – 2024. – V. 179. - № 6. – P. 739–762.
6. Behman R. et al. Adhesive small-bowel obstruction – surgery for all? – Reply // JAMA Surg. – 2019. – № 154(11). – P. 1076–1077.
7. Fatehi Hassanabad A. et al. Prevention of post-operative adhesions: a comprehensive review of present and emerging strategies // Biomolecules. – 2021. – № 11(7). – P. 1027.

8. Fischer A. et al. Neutrophils direct preexisting matrix to initiate repair in damaged tissues // Nat. Immunol. – 2022. – № 23(4). – P. 518–531.
9. Hellebrekers B. W. et al. Short-term fibrinolytic activity in the peritoneal cavity after surgery // Br. J. Surg. – 2016. – № 93. - № 7. – P. 819–825.
10. Henry R. et al. Meckel's diverticulum causing an interloop adhesion and bowel obstruction from an internal hernia // Am. Surg. – 2023. – № 89(4). – P. 1112–1114.
11. Holmdahl L. The role of fibrinolysis in peritoneal tissue repair // European Journal of Surgery, Supplement. – 2017. – № 577. – P. 24–31.
12. Issangya C.E. et al. Perioperative serum albumin as a predictor of adverse outcomes in abdominal surgery: prospective cohort hospital-based study in Northern Tanzania // BMC Surg. – 2020. – № 20(1). – P. 155.
13. Iwata R. et al. Preventive effects of bioabsorbable anti-adhesion barriers on bowel obstruction after colectomy in colon cancer patients: a retrospective cohort study using an insurance claims database // Ther. Innov. Regul. Sci. – 2024. – № 58(5). – P. 831–837.