

## РОЛЬ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ И ФАКТОРОВ РОСТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРАПРОКТИТА У ПОДРОСТКОВ

Жуманкулов Ғафур Алмаматович  
EMU UNIVERSITY г.Ташкент

### ВВЕДЕНИЕ (INTRODUCTION)

Актуальность проблемы. Хронический парапроктит (ХП) у подростков представляет собой сложную междисциплинарную проблему, находящуюся на стыке детской колопроктологии, хирургии и клинической иммунологии. Основным патоморфологическим субстратом данного заболевания является сформированный свищевой ход в параректальной клетчатке, окруженный зоной хронического гнойно-гранулематозного воспаления и склероза. Длительное, волнообразное течение ХП с частыми обострениями во многом обусловлено нарушениями в локальной системе регуляции регенераторного процесса.

Заживление любой хирургической раны, особенно в анатомически сложной и микробно-агрессивной аноректальной зоне, представляет собой строго скоординированный каскад молекулярных и клеточных событий. Ведущую регуляторную роль в этом процессе играет цитокиновая сеть и эндогенные факторы роста. Иммунокомпетентные клетки (макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты), а также резидентные клетки тканей (эндотелиоциты, фибробласты) в зоне альтерации секретируют широкий спектр сигнальных молекул. Медиаторы воспаления, такие как интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) и интерлейкин-8 (IL-8), запускают и поддерживают экссудативно-деструктивную фазу раневого процесса. С другой стороны, ростовые факторы — сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF-A) и основной фактор роста фибробластов (bFGF) — призваны стимулировать ангиогенез, пролиферацию клеток и синтез компонентов экстрацеллюлярного матрикса, обеспечивая переход раны к фазе регенерации.

В подростковом периоде, характеризующемся бурным ростом организма и выраженными гормональными сдвигами, локальная цитокиновая регуляция имеет свои патофизиологические особенности. Дисбаланс между интенсивностью провоспалительного сигнала и скоростью репаративных процессов может приводить к несостоятельности грануляционной ткани, избыточному фиброзированию и, как следствие, к формированию стойких свищей и высокому риску рецидивов после оперативного лечения. Вместе с тем, характер сопряженности системных и локальных изменений цитокинового профиля и факторов роста у подростков с ХП до сих пор изучен недостаточно. Понимание этих механизмов необходимо для выделения молекулярных критериев затяжного течения раневого процесса и обоснования патогенетической терапии.

Цель исследования: Оценить особенности локального и системного цитокинового статуса, а также уровней факторов роста (*VEGF-A*, *bFGF*) у подростков с хроническим парапроктитом для раскрытия молекулярных механизмов хронизации раневого процесса.

Задачи исследования:

Определить уровни провоспалительных цитокинов (*IL-1 $\beta$* , *IL-8*) в сыворотке крови и раневом экссудате у подростков с ХП до начала терапии.

Изучить концентрацию ангиогенного фактора (*VEGF-A*) и митогенного фактора (*bFGF*) на системном и локальном уровнях у данной категории пациентов.

Проанализировать характер взаимосвязи между провоспалительными медиаторами и факторами роста в динамике раневого процесса.

Материалы и методы (Materials and Methods)

Исследование выполнено на базе Самаркандского государственного медицинского университета. Клинико-лабораторный мониторинг проведен у 100 подростков в возрасте от 17 до 19 лет с верифицированным диагнозом «хронический парапроктит» (основная группа) и 26 здоровых лиц соответствующего возраста (контрольная группа).

Объекты исследования. Объектами для молекулярно-биологического анализа служили:

Сыворотка периферической крови — для оценки системного уровня цитокинов и ростовых факторов. Забор крови осуществлялся из кубитальной вены локтевого сгиба.

Раневой экссудат (содержимое свищевого хода / раневое отделяемое) — для оценки локальной продукции медиаторов. Забор биологического материала производился микропипеткой или путем смыва стерильным изотоническим раствором натрия хлорида непосредственно из очага поражения до операции и в процессе последующего ведения раны. После центрифугирования супернатант замораживали и хранили при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа.

Методы исследования цитокинов и факторов роста. Количественное определение цитокинов и ростовых факторов выполнялось методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА / ELISA). Использовались коммерческие тест-системы со спецификацией к человеческим антигенам:

Для определения *IL-1 $\beta$*  и *IL-8* применялись наборы реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Результаты регистрировали в пикограммах на миллилитр (пг/мл).

Для определения сосудистого эндотелиального фактора роста (*VEGF-A*) и основного фактора роста фибробластов (*bFGF*) использовались тест-системы «RayBiotech» (США) и «Bender MedSystems» (Австрия). Расчет концентрации производился на основании калибровочных кривых. Измерения оптической плотности осуществлялись на автоматическом микропланшетном ридере при длине волны 450 нм.

Статистический анализ. Полученные цифровые данные обрабатывались методами вариационной статистики с использованием программы *Statistica 10.0*. Проверялось соответствие распределения признаков закону нормального распределения.

Рассчитывали средние значения ( $M$ ) и ошибку средних ( $m$ ). Достоверность различий для связанных и несвязанных выборок определялась с использованием параметрического  $t$ -критерия Стьюдента и непараметрического критерия Вилкоксона. Для выявления взаимосвязи между показателями рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $r$ ). Критическим уровнем значимости принимался  $p < 0,05$ .

#### Результаты исследования (Results)

Количественный анализ содержания провоспалительных цитокинов и факторов роста в сыворотке крови и раневой (серозной) жидкости у подростков с хроническим парапроктитом (ХП) позволил объективизировать характер молекулярно-биологических нарушений, определяющих затяжное течение раневого процесса.

#### Системный цитокиновый профиль и уровни факторов роста

При анализе сывороточных маркеров системного воспаления у пациентов с ХП было установлено резкое, статистически высокодостоверное увеличение концентрации ключевых провоспалительных медиаторов по сравнению со здоровыми подростками из контрольной группы.

Так, уровень интерлейкина-1 $\beta$  ( $IL-1\beta$ ) в сыворотке крови пациентов основной группы составил  $95,15 \pm 2,75$  пг/мл, что в 4,4 раза превышает показатели контроля ( $21,46 \pm 1,01$  пг/мл;  $p < 0,001$ ). Индивидуальные колебания уровня  $IL-1\beta$  в основной группе находились в широком диапазоне от 65,72 до 138,18 пг/мл.

Аналогичная закономерность выявлена при исследовании хемокина интерлейкина-8 ( $IL-8$ ), ответственного за хемотаксис нейтрофилов в очаг альтерации. Его сывороточная концентрация у подростков с ХП достигла  $82,41 \pm 1,36$  пг/мл, что в 5,5 раза выше нормативных значений контрольной группы ( $15,10 \pm 1,13$  пг/мл;  $p < 0,001$ ) при индивидуальном диапазоне от 65,02 до 107,04 пг/мл.

Сравнительная оценка системного уровня регуляторов ангиогенеза и пролиферации выявила разнонаправленные сдвиги, представленные в таблице 1.

Таблица 1. Сывороточное содержание факторов роста в исследуемых группах до лечения ( $M \pm m$ )

| Показатель       | Контрольная группа<br>( $n=26$ ) | Основная группа (ХП)<br>( $n=58$ ) | Достоверность<br>( $p$ ) |
|------------------|----------------------------------|------------------------------------|--------------------------|
| $VEGF-A$ , пг/мл | $45,61 \pm 2,00$                 | $57,83 \pm 1,39$                   | $p < 0,001$              |
| $bFGF$ , пг/мл   | $8,34 \pm 0,44$                  | $7,80 \pm 0,39$                    | $p > 0,05$               |

Примечание: достоверность различий приведена по отношению к контрольной группе.

Как видно из данных таблицы 1, уровень сосудистого эндотелиального фактора роста ( $VEGF-A$ ) в системном кровотоке у больных ХП был достоверно повышен в 1,3 раза ( $57,83 \pm 1,39$  пг/мл против  $45,61 \pm 2,00$  пг/мл в контроле;  $p < 0,001$ ). В то же время,

сывороточная концентрация основного фактора роста фибробластов (*bFGF*) имела лишь тенденцию к снижению (на 10%) и составила  $7,80 \pm 0,39$  пг/мл (в контроле —  $8,34 \pm 0,44$  пг/мл;  $p > 0,05$ ), что свидетельствует об отсутствии адекватного системного фибробластического ответа на хронический деструктивный процесс.

Локальный цитокиновый статус и факторы роста в очаге поражения

Изучение содержания медиаторов непосредственно в серозно-гнойном отделяемом и раневом экссудате свищевого хода позволило оценить истинную интенсивность локального воспаления и регенераторный потенциал тканей анальной зоны.

Результаты исследования раневой жидкости подростков с ХП до начала лечения систематизированы в таблице 2.

*Таблица 2. Содержание цитокинов и ростовых факторов в серозной жидкости свищевого хода у подростков с ХП (n=58)*

| Исследуемый<br>молекулярный маркер | Среднее значение<br>( $M \pm m$ ), пг/мл | Медиана $Me$ [<br>Q1;Q3] | Минимальное<br>значение ( $Min$ ) |
|------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| <i>IL-1<math>\beta</math></i>      | $32,47 \pm 1,08$                         | 33,55 [25,57;39<br>,92]  | 19,51                             |
| <i>IL-8</i>                        | $53,90 \pm 1,13$                         | 54,50 [47,63;60<br>,17]  | 33,74                             |
| <i>VEGF-A</i>                      | $28,73 \pm 1,17$                         | 27,81 [25,30;33<br>,54]  | 11,50                             |
| <i>bFGF</i>                        | $2,90 \pm 0,18$                          | 2,93 [1,52;3,73<br>]     | 1,10                              |

Примечание: данные получены при первичном обследовании до оперативного вмешательства.

Анализ локального статуса (таблица 2) показал высокую концентрацию прорегенераторных и воспалительных факторов в зоне свища. Обращает на себя внимание тот факт, что если уровни провоспалительных интерлейкинов (*IL-1 $\beta$*  и *IL-8*) в ране оставались стабильно высокими, то локальный уровень основного фактора роста фибробластов (*bFGF*) находился на минимальных значениях ( $2,90 \pm 0,18$  пг/мл). Это указывает на резкое угнетение процессов пролиферации фибробластов и синтеза коллагена непосредственно в стенках свищевого хода.

Обсуждение (Discussion)

Проведенный анализ демонстрирует глубокий патогенетический дисбаланс в системе цитокиновой регуляции раневого процесса у подростков с ХП. Избыточный синтез прокурирующих воспаление цитокинов *IL-1 $\beta$*  (повышение в 4,4 раза) и *IL-8* (повышение в 5,5 раза) свидетельствует о незавершенности экссудативной фазы раневого процесса и переходе воспаления в хроническую, деструктивную форму. Постоянная микробная инвазия из просвета прямой кишки поддерживает

гиперактивацию макрофагов и нейтрофилов, что ведет к непрерывному повреждению окружающих тканей и препятствует нормальной эпителизации раны.

Особый интерес вызывает характер экспрессии факторов роста. Повышение уровня *VEGF-A* (в 1,3 раза на системном уровне) отражает реакцию организма на локальную тканевую гипоксию в зоне гнойного очага.

Эндотелиальный фактор роста стимулирует неоангиогенез, однако в условиях избытка провоспалительных интерлейкинов вновь образующиеся капилляры обладают повышенной проницаемостью, что усиливает отек перианальной зоны и поддерживает экссудацию.

В то же время, критически важный для фазы пролиферации фибробластический фактор (*bFGF*) на локальном уровне угнетен и составляет всего  $2,90 \pm 0,18$  пг/мл. Дефицит *bFGF* приводит к нарушению миграции фибробластов, дезорганизации внеклеточного матрикса и замедлению созревания грануляционной ткани. Заживление операционной раны в таких условиях протекает по дефектному типу, формируя грубые цикатризационные изменения и сохраняя условия для рецидивирования свищей.

Таким образом, оценка сопряженности цитокинового профиля и ростовых факторов выступает в роли ценного прогностического маркера течения ХП у подростков, обосновывая необходимость применения локальных препаратов, способных модулировать раневое микроокружение (в частности, гелей на основе гиалуроната цинка).

#### Выводы (Conclusions)

Хронический парапроктит у подростков протекает на фоне выраженной системной воспалительной реакции, манифестирующей многократным увеличением сывороточных уровней *IL-1 $\beta$*  (в 4,4 раза, до  $95,15 \pm 2,75$  пг/мл) и *IL-8* (в 5,5 раза, до  $82,41 \pm 1,36$  пг/мл).

Молекулярные механизмы затяжного течения заболевания обусловлены дисбалансом факторов ангиогенеза и пролиферации, который характеризуется достоверным ростом системного уровня *VEGF-A* до  $57,83 \pm 1,39$  пг/мл на фоне относительного дефицита фибробластического сигнала (*bFGF*).

Местный раневой статус в зоне параректального свища до начала лечения характеризуется сохранением высокого экссудативного потенциала (*IL-8* —  $53,90 \pm 1,13$  пг/мл) и глубоким локальным дефицитом основного фактора роста фибробластов (*bFGF* —  $2,90 \pm 0,18$  пг/мл), что блокирует полноценную регенерацию и тканевое ремоделирование.

Выявленные особенности цитокинового и ростового профилей обосновывают необходимость разработки и внедрения методов направленной локальной иммунокоррекции для стимуляции ангиогенеза и репарации раны в послеоперационном периоде.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:**

Жуманкулов Г. А. Цитокиновый профиль у больных хроническим парапроктитом // Международный журнал научной педиатрии. — 2024. — № 6. — С. 531–535.

Жуманкулов Г. А. Иммуноцитокиновые маркеры раневого процесса при хроническом парапроктите // Pedagogical Sciences and Teaching Methods: International Conference. — 2024. — Part 35. — P. 61–62.

Сетдикова Н. Х., Латышева Т. В. Роль провоспалительных цитокинов в регуляции барьерных функций слизистых оболочек // Иммунология. — 2018. — Т. 39, № 4. — С. 212–218.

Смирнова С. В., Козлов В. А. Цитокины в патогенезе хронических гнойно-воспалительных заболеваний // Медицинская иммунология. — 2021. — Т. 23, № 3. — С. 485–496.

Симбирцев А. С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. — СПб.: Фолиант, 2018. — 512 с.

Черешнев В. А., Гусев Е. Ю. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления // Медицинская иммунология. — 2022. — Т. 24, № 1. — С. 5–22.

Barone M. V., Gimondo P., Ruggiero G. Cytokine profile imbalance in perianal Crohn's disease and idiopathic fistulas in pediatric patients // Mediators of Inflammation. — 2019. — Vol. 2019. — Art. ID 4819260.

Dinarelli C. A. Overview of the IL-1 family in inflammatory diseases // Immunological Reviews. — 2018. — Vol. 281, No. 1. — P. 8–27.

Sahnan K., Adegbola S. O., Tozer P. J. Longitudinal changes in cytokine networks during healing of perianal fistulas // British Journal of Surgery. — 2020. — Vol. 107, No. 8. — P. 1045–1054.

Werner S., Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines // Physiological Reviews. — 2023. — Vol. 83, No. 3. — P. 835–870.