

# ЦИТОКИНОВЫЙ БАЛАНС КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ВОСПАЛЕНИЯ ИСКУССТВЕННЫХ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МЯГКИХ ТКАНЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Соловьева А.С.<sup>1</sup>, Мелконян Г.Г.<sup>1,2</sup>, Коваль А.Н.<sup>1,2</sup>, Ташкинов Н.В.<sup>1</sup>,  
Рукина Н.Ю.<sup>1,2</sup>, Шокур О.А.<sup>3</sup>, Сапожников Ю.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Хабаровск, Россия

<sup>2</sup> ФГКУ «301 военный клинический госпиталь», г. Хабаровск, Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

**Резюме.** В основе искусственных (искусственных) гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей (АГВЗМТ) лежит воспалительный процесс, который в трехдневный срок приводит к развитию флегмон и абсцессов в месте инвазии. Исследование цитокинового статуса крыс с АГВЗМТ позволяет оценить динамику маркеров воспаления и выявить особенность течения искусственного воспаления. Эксперимент проводили на 126 белых крысах серии «Вистар», разделенных на 3 группы: основную (n = 57), где использовалась лабораторная модель АГВЗМТ; группу сравнения (n = 58), в которой крысам проводилась инъекция из смеси штаммов условно-патогенных микроорганизмов, полученных в чистой культуре из ротовой жидкости человека: *S. epidermidis*, *S. mitis*, *S. salivarius* в титре 9lg (КОЕ) в 1 мл – вместе со смесью 2,5%-ной эмульсии гидрокортизона ацетата из расчета 20 мг на 100 г массы тела животного и раствора дексаметазона в количестве 0,5 мг; и контрольную группу (n = 11), в которой крысам проводилась инъекция 0,9%-ного раствора натрия хлорида в объеме 0,3 мл вместе со смесью 2,5%-ной эмульсии гидрокортизона ацетата из расчета 20 мг на 100 г массы тела животного и раствора дексаметазона в количестве 0,5 мг. С помощью автоматизированной системы анализа крови крыс Mindray DC-2800 Vet Auto Hematology Analyzer исследованы форменные элементы крови. Методом иммуноферментного анализа проведена оценка динамики провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухолей (TNF), интерлейкина-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), интерлейкина-6 (IL-6), противовоспалительных цитокинов: интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-10 (IL-10). Для прогноза течения воспаления в сторону осложнений или разрешения воспалительного процесса использовали соотношение провоспалительных к противовоспалительным цитокинам, нормальным отношением которого считали расчетную среднюю величину цитокинового отношения для группы контроля. В ре-

## Адрес для переписки:

Соловьева Анна Степановна  
ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный  
медицинский университет» Министерства  
здравоохранения РФ  
680000, Россия, г. Хабаровск,  
ул. Муравьева-Амурского, 35.  
Тел.: 8 (914) 206-58-68.  
E-mail: a.s.solovyeva@mail.ru

## Address for correspondence:

Anna S. Solovyeva  
Far Eastern State Medical University  
35 Muravyov-Amursky St  
Khabarovsk  
680000 Russian Federation  
Phone: +7 (914) 206-58-68.  
E-mail: a.s.solovyeva@mail.ru

## Образец цитирования:

А.С. Соловьева, Г.Г. Мелконян, А.Н. Коваль,  
Н.В. Ташкинов, Н.Ю. Рукина, О.А. Шокур,  
Ю.А. Сапожников «Цитокиновый баланс как  
диагностический маркер воспаления искусственных  
гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей  
в эксперименте» // Медицинская иммунология, 2023.  
Т. 25, № 1. С. 91-100.  
doi: 10.15789/1563-0625-CBA-2304

© Соловьева А.С. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

A.S. Solovyeva, G.G. Melkonyan, A.N. Koval, N.V. Tashkinov,  
N.Yu. Rukina, O.A. Shokur, Yu.A. Sapozhnikov "Cytokine  
balance as a diagnostic marker of inflammation in experimental  
purulent lesions of soft tissues", *Medical Immunology  
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2023, Vol. 25, no. 1,  
pp. 91-100.  
doi: 10.15789/1563-0625-CBA-2304

© Solovyeva A.S. et al., 2023

The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-CBA-2304

зультате эксперимента проведена оценка характера клеточной воспалительной реакции в динамике, определение ее взаимосвязи с маркерами воспаления. У всех животных основной группы развилась флегмона мягких тканей в интервале от 3 до 7 дней от начала эксперимента, а летальность составила 100%. В группе сравнения абсцессы развились в 82,8% случаев на 12-15-й день от начала эксперимента, летальных исходов не наблюдалось. Соотношение про- и противовоспалительных цитокинов в основной группе 8-кратно повышалось уже к исходу 1-х суток, группа сравнения характеризовалась отсутствием существенных отличий от группы контроля. Наиболее высокие показатели провоспалительных цитокинов зафиксированы в основной группе на 12-15 сутки.

*Ключевые слова: флегмона, абсцессы, искусственные заболевания мягких тканей, воспалительные цитокины.*

## CYTOKINE BALANCE AS A DIAGNOSTIC MARKER OF INFLAMMATION IN EXPERIMENTAL PURULENT LESIONS OF SOFT TISSUES

Solovyeva A.S.<sup>a</sup>, Melkonyan G.G.<sup>a,b</sup>, Koval A.N.<sup>a,b</sup>, Tashkinov N.V.<sup>a</sup>, Rukina N.Yu.<sup>a,b</sup>, Shokur O.A.<sup>c</sup>, Sapozhnikov Yu.A.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation

<sup>b</sup> 301<sup>st</sup> Military Clinical Hospital, Khabarovsk, Russian Federation

<sup>c</sup> Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

**Abstract.** Inflammatory process is at the heart of artificial (artificial) purulent-inflammatory diseases of soft tissues (APDST), which may lead to the development of phlegmon and abscesses at the site of invasion within a three-day period. The study of the cytokine status of rats with APDST allows us to evaluate the dynamics of inflammation markers and assess the peculiarities of the pathological course in artificial model of inflammation. The experiment was carried out on 126 white Wistar rats divided into 3 groups: (1) the main group (n = 57), where the laboratory model of APDST was used; (2) a comparison group (n = 58), in which the rats were injected with a mixture of opportunistic bacterial strains isolated from pure cultures of human oral fluid, i.e., *S. epidermidis*, *S. mitis*, *S. salivarius* at the titer of 9lg (CFU) per 1 ml injected together with a mixture of 2.5% hydrocortisone acetate emulsion (20 mg per 100 g of animal body weight), and dexamethasone solution at the dose of 0.5 mg; (3) control group (n = 11), where the animals were injected with 0.9% sodium chloride solution in a volume of 0.3 ml, together with a mixture of 2.5% hydrocortisone acetate emulsion at the rate of 20 mg per 100 g of body weight, and dexamethasone solution at the dose of 0.5 mg. Blood cells were studied using the Mindray DC-2800 Vet Auto Hematology Analyzer automated rat blood test system. The dynamics of pro-inflammatory cytokines: tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), anti-inflammatory cytokines: interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10) was assessed by enzyme immunoassay. To predict the course of inflammation towards complications, or resolution of the inflammatory process, the ratio of pro-inflammatory to anti-inflammatory cytokines was used, with normal ratio considered an estimated average of the cytokine ratio for the control group. When analyzing results of this experimental study, the nature of cellular inflammatory response was assessed in dynamics, and its relationship with inflammation markers was determined. All animals of the main group developed soft tissue phlegmon within 3 to 7 days from the beginning of the experiment, and their mortality rate was 100%. In comparison group, the abscesses developed in 82.8% of cases on the day 12 to 15 from the start of the experiment, without any deaths observed. The ratio of pro- and anti-inflammatory cytokines in the main group increased 8-fold already by the end of the 1st day, the comparison group was characterized by the absence of significant differences from the control group. The highest levels of pro-inflammatory cytokines were recorded in the main experimental group on the days 12 to 15.

*Keywords: purulent infection, inflammation, experimental, soft tissues, cytokines*

## Введение

В основе искусственного гнойно-воспалительного заболевания мягких тканей лежит воспалительный процесс, который в трехдневный срок приводит к развитию флегмон и абсцессов в местах инвазии. Известно, что гнойно-воспалительные процессы, протекающие в мягких тканях в ответ на внедрение патогенных бактерий, активируют неспецифические факторы защиты организма и запускают каскад иммунологических процессов [10, 11]. Помимо многочисленных клеточных и гуморальных реакций, способствующих заживлению раны, в воспалительном процессе принимают участие и факторы иммунной системы, в том числе цитокины, количественное определение которых имеет огромную практическую значимость для оценки патологических процессов [1, 12, 13, 14].

**Целью данного исследования** явилось изучение показателей цитокинового статуса и характера клеточной воспалительной реакции в мягких тканях у крыс, что позволит в клинических условиях определить диагностическую и прогностическую значимость этих показателей и выбрать оптимальную тактику хирургического лечения, иммунотерапии и реабилитации.

## Материалы и методы

Исследование проводилось на базе центральной научно-исследовательской лаборатории ДВГМУ. Использовались 3-месячные белые лабораторные крысы-самцы «Вистар» с массой тела 220–250 г. Все оперативные вмешательства проводились под наркозом в асептических условиях.

Все крысы были разделены на 3 группы: основную, группу сравнения и контрольную. В основной группе ( $n = 57$ ) использовали запатентованную нами лабораторную модель АГВЗМТ у крыс [2]. Для этого в мышечный массив тазовой конечности крысы через предварительно эпилированный и обработанный антисептиком участок кожи в одном шприце однократно вводили смесь 2,5%-ной эмульсии гидрокортизона ацетата из расчета 20 мг на 100 г массы тела животного, раствор дексаметазона в количестве 0,5 мг и ротовую жидкость человека в объеме 0,3 мл. В группе сравнения ( $n = 58$ ) крысам проводилась инъекция из смеси штаммов факультативно-анаэробных микроорганизмов, полученных в чистой культуре из ротовой жидкости человека: *S. epidermidis*, *S. mitis*, *S. salivarius* в титре 9lg (КОЕ) в 1 мл – вместе со смесью 2,5%-ной эмульсии гидрокортизона ацетата из расчета 20 мг на 100 г массы тела животного и 0,5 мг раствора дексаметазона. В контрольной группе ( $n = 11$ ) крысам проводилась инъекция 0,9%-ного раствора

натрия хлорида в объеме 0,3 мл вместе со смесью 2,5%-ной эмульсии гидрокортизона ацетата из расчета 20 мг на 100 г массы тела животного и 0,5 мг раствора дексаметазона.

Изучались летальность крыс в период до 12 суток после инъекции и корреляция этих показателей с данными анализа крови. Забор крови проводили под легким эфирным наркозом из сердца, выводя в последующем животных из эксперимента по 7 крыс на каждом этапе забора через 12 ч, 1, 2, 3, 5, 7, 9 и 12 суток от начала воспаления.

В цельной крови с помощью автоматического анализатора крови животных Vet Auto Hematology Analyzer BC 2800 Mindary измеряли показатели общего анализа крови, оценивали основные показатели для анализа уровня лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов.

Уровень интерлейкинов (IL) (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6 и IL-10) определяли в сыворотке крови методом ИФА с помощью специфических наборов АО «Вектор-Бест». Оценку выраженности воспалительной реакции при гнойном воспалении в мягких тканях в динамике определяли с помощью интерлейкинового баланса (ИБ) путем подсчета соотношения про- и противовоспалительных IL: (TNF $\alpha$  + IL-1 $\beta$  + IL-6) / (IL-4 + IL-10).

При статистической обработке определяли среднее арифметическое, среднее квадратичное отклонение. Для исследования силы взаимосвязей показателей изучались межгрупповые различия при помощи непараметрических критериев Манна–Уитни, Вальда–Вольфовица и Колмогорова–Смирнова при  $p \leq 0,05$ . Обработка цифровых данных проведена методом вариационной статистики с использованием пакета программ Statistica 6 [5].

## Результаты

По полученным нами данным выявлено, что гнойно-воспалительный процесс в мягких тканях по-разному протекает на модели АГВЗМТ и модели с использованием выделенной из слюны условно-патогенной флоры.

В результате исследования межгрупповых различий по тестам Манна–Уитни, Вальда–Вольфовица, Колмогорова–Смирнова выявлены следующие закономерности. Так, между основной группой и контрольной установлены достоверные различия в динамике веса, наличии инфильтрата, боли (при пальпации), абсцесса, отека, Lymph (%), Mon (%), Gran (%), PDW, IL-6, в то время как между группой сравнения и контрольной группой достоверные различия выявлены по значительно меньшему количеству показателей: наличие отека, Lymph (%), Gran (%). Обнаружен-

ные межгрупповые различия основной группы и группы сравнения касались многих показателей воспаления: динамика веса, инфильтрат, боль, хромота, абсцесс, флегмона с начальными проявлениями, флегмона с выраженными проявлениями, асимметрия конечностей, альтерация, Lymph ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Mon ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Gran ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Lymph (%), Mon (%), Gran (%), IL-10 (нг/мл) (табл. 1, 2, 3).

Для оценки воспалительной реакции среди показателей общего анализа крови наиболее информативным служит уровень лейкоцитов. В ходе эксперимента, на фоне искусственно вызванной иммуносупрессии, выявлено, что в первые 12 часов подавлена реактивность организма крыс и после ввода триггера воспаления лейкоцитоз отсутствовал (табл. 4). На 3-и сутки имеющиеся лабораторные показатели, коррелирующие с воспалением в основной группе, в динамике снизились, что можно объяснить феноменом потребления пула лейкоцитов. К тому же вызванная нами искусственная иммуносупрессия оказывает действие в течение первых 3 суток, подавляя пролиферацию лимфоцитов в ответ на внедрение антигена [3, 5, 7]. В группе сравнения уровень лейкоцитов в первые 3 суток близок к основной группе и сохранялся на протяжении всего эксперимента в пределах  $7,3 \times 10^9/\text{л} - 11,6 \times 10^9/\text{л}$ .

Из таблицы 4 видно, что переломный момент в течение воспаления приходится на 5-е сутки: в основной группе отмечался резкий подъем уровня лейкоцитов ( $13,817 \pm 1,518 \times 10^9/\text{л}$ ), незначительно превышая аналогичный показатель в группе сравнения ( $11,643 \pm 0,713 \times 10^9/\text{л}$ ). Нарастание этого показателя в группе с АГВЗМТ, где была введена ротовая жидкость, в динамике (12-е сутки:  $14,733 \pm 3,042 \times 10^9/\text{л}$ ) соответствовало клиническим изменениям. Так, на фоне лейкоцитоза отмечалось подавление двигательной активности, снижение аппетита вплоть до его отсутствия на 12-е сутки, отрицательная динамика массы тела с  $250 \pm 19$  г до  $161 \pm 15$  г, время образования инфильтрата, абсцесса или флегмоны мягких тканей, характер тканей при вскрытии гнояника. Необходимо отметить, что это нашло отражение и на показателях летальности крыс в период до 12 дня эксперимента (летальный исход у 100% животных), в то время как в группе сравнения ни одна крыса не погибла. В группе сравнения местная воспалительная реакция после 5-х суток не выражена, количество лейкоцитов начинает снижаться, вплоть до 12-х суток ( $7,317 \pm 1,098 \times 10^9/\text{л}$ ).

Динамика уровней про- и противовоспалительных ИЛ в динамике воспаления в разных группах животных представлена в таблицах 5 и 6.

Провоспалительные ИЛ, такие как TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , продуцирующиеся в ответ на внедрение

патогенов и повреждение тканей, стимулируют развитие местной воспалительной реакции, направленной на элиминацию патогена и заживление тканей [1, 4]. Результаты исследования показали, что в группе с АГВЗМТ TNF $\alpha$  усиленно вырабатывается в начале эксперимента ( $0,813 \pm 0,181$  нг/мл) и такой уровень держится до 2-х суток ( $0,787 \pm 0,219$  нг/мл). После некоторого снижения на 3-и сутки его уровень вновь повышается, и такая тенденция сохраняется до конца эксперимента ( $1,533 \pm 1,533$  нг/мл). В группе сравнения исходно сниженный уровень TNF $\alpha$ , образует два пика повышения: на 3-е и 12-е сутки эксперимента ( $0,629 \pm 0,519$  нг/мл и  $0,629 \pm 0,519$  нг/мл соответственно), наглядно показывая роль этого цитокина в развитии воспалительного процесса.

Выявлены два волнообразных подъема IL-1 $\beta$  в основной группе: пики подъема приходятся на 2-е ( $0,104 \pm 0,021$  нг/мл) и 7-е ( $0,321 \pm 0,157$  нг/мл) сутки. В группе сравнения изначально невысокие уровни этого цитокина приобретают динамический характер роста, проявляющийся двумя пиками подъема на 5-е и 12-е сутки ( $0,143 \pm 0,039$  нг/мл и  $0,172 \pm 0,020$  нг/мл соответственно). Из таблиц 5 и 6 видно, что с 5-х суток IL-1 $\beta$  в основной группе в 12 раз выше, чем в группе сравнения и, несмотря на снижение на 9-е сутки, имел тенденцию роста к концу эксперимента ( $0,107 \pm 0,080$  нг/мл).

Изначально повышенный уровень IL-6 в основной группе продолжал увеличиваться до 2-х суток, превышая таковые показатели в группе сравнения и подчеркивая его причастность, совместно с TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , к индукции острофазного ответа, а в дальнейшем развитии проявление его иммуносупрессорных свойств. На 3-е сутки этот показатель в группе с АГВЗМТ снижался до нормальных величин ( $0,257 \pm 0,170$  нг/мл). В группе сравнения к 3 суткам выявлен пикообразный подъем этого показателя до  $3,729 \pm 2,137$  нг/мл. В основной группе, начиная с 3-х суток, уровень IL-6 увеличивался и превышал таковой в группе сравнения лишь к 12-м суткам, достигнув максимального значения ( $5,255 \pm 2,470$  нг/мл), что может расцениваться как генерализация гнойного воспаления. В группе сравнения повышенный уровень этого цитокина практически не изменялся в период с 3-х и до 7-х суток, затем отмечался спад продукции IL-6 на 7-е сутки и к 12-м суткам достигал нормальных величин ( $0,167 \pm 0,167$  нг/мл).

## Обсуждение

Провоспалительные ИЛ, принимающие участие в индукции и дальнейшем прогрессировании воспаления, приводят сами к повреждениям тканей, и поэтому существует антагонистиче-

**ТАБЛИЦА 1. МЕЖГРУППОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ ОСНОВНОЙ ГРУППОЙ И КОНТРОЛЬНОЙ НА ОСНОВАНИИ РАСЧЕТА НЕПАРАМЕТРИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ ( $p \leq 0,05$ )**

TABLE 1. INTERGROUP DIFFERENCES BETWEEN THE MAIN GROUP AND THE CONTROL GROUP BASED ON THE CALCULATION OF NONPARAMETRIC CRITERIA ( $p \leq 0.05$ )

Показатель Indicator	Тест Манна–Уитни Mann–Whitney test	Тест Вальда–Вольфовица Wald–Wolfowitz test	Тест Колмогорова–Смирнова Kolmogorov–Smirnov test
Вес, г Weight, g	0,000142	0,013014	$p < 0,005$
Инфильтрат Infiltrate	0,004637	0,042663	$p < 0,01$
Боль (при пальпации) Pain (on palpation)	0,004637	0,042663	$p < 0,01$
Потеря веса Weight loss	0,004637	0,042663	$p < 0,01$
Абсцесс Abscess	0,004637	0,042663	$p < 0,01$
Отек Edema	0,000000	0,000000	$p < 0,001$
Lymph, %	0,000005	0,000000	$p < 0,001$
Mon, %	0,000151	0,001144	$p < 0,005$
Gran, %	0,000024	0,000025	$p < 0,001$
PDW	0,000565	0,024097	$p < 0,025$
IL-6, нг/мл IL-6, ng/mL	0,005301	0,021381	$p < 0,025$

**ТАБЛИЦА 2. МЕЖГРУППОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ ГРУППОЙ СРАВНЕНИЯ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППОЙ НА ОСНОВАНИИ РАСЧЕТА НЕПАРАМЕТРИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ ( $p \leq 0,05$ )**

TABLE 2. INTERGROUP DIFFERENCES BETWEEN THE COMPARISON GROUP AND THE CONTROL GROUP BASED ON THE CALCULATION OF NONPARAMETRIC CRITERIA ( $p \leq 0.05$ )

Показатель Indicator	Тест Манна–Уитни Mann–Whitney test	Тест Вальда–Вольфовица Wald–Wolfowitz test	Тест Колмогорова–Смирнова Kolmogorov–Smirnov test
Отек Edema	0,000023	0,000013	$p < 0,001$
Lymph, %	0,000405	0,013585	$p < 0,001$
Gran, %	0,000314	0,000011	$p < 0,001$

**ТАБЛИЦА 3. МЕЖГРУППОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ ОСНОВНОЙ ГРУППОЙ И ГРУППОЙ СРАВНЕНИЯ НА ОСНОВАНИИ РАСЧЕТА НЕПАРАМЕТРИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ ( $p \leq 0,05$ )**

TABLE 3. INTERGROUP DIFFERENCES BETWEEN THE MAIN GROUP AND THE COMPARISON GROUP BASED ON THE CALCULATION OF NONPARAMETRIC CRITERIA ( $p \leq 0.05$ )

Показатель Indicator	Тест Манна–Уитни Mann–Whitney test	Тест Вальда–Вольфовица Wald–Wolfowitz test	Тест Колмогорова–Смирнова Kolmogorov–Smirnov test
<b>Вес, г</b> Weight, g	0,000000	0,000000	$p < 0,001$
<b>Инфильтрат</b> Infiltrate	0,000035	0,000530	$p < 0,001$
<b>Боль (при пальпации)</b> Pain (on palpation)	0,000035	0,000530	$p < 0,001$
<b>Хромота</b> Lameness	0,000000	0,000000	$p < 0,001$
<b>Потеря веса</b> Weight loss	0,000000	0,000530	$p < 0,001$
<b>Абсцесс</b> Abscess	0,000000	0,000000	$p < 0,001$
<b>Флегмона (начальные явления)</b> Phlegmon (initial phenomena)	0,000000	0,000000	$p < 0,001$
<b>Флегмона (выраженные явления)</b> Phlegmon (pronounced phenomena)	0,000007	0,000057	$p < 0,025$
<b>Асимметрия конечностей</b> Limb asymmetry	0,000002	0,000000	$p < 0,005$
<b>Альтерация</b> Alteration	0,000000	0,000000	$p < 0,001$
<b>Лymph, <math>\times 10^9/\text{л}</math></b> Lymph, $\times 10^9/\text{L}$	0,000000	0,000000	$p < 0,001$
<b>Mon, <math>\times 10^9/\text{л}</math></b> Mon, $\times 10^9/\text{L}$	0,002339	0,000391	$p < 0,025$
<b>Gran, <math>\times 10^9/\text{л}</math></b> Gran, $\times 10^9/\text{L}$	0,000000	0,000084	$p < 0,001$
<b>Lymph, %</b>	0,000000	0,000000	$p < 0,001$
<b>Mon, %</b>	0,000002	0,000084	$p < 0,001$
<b>Gran, %</b>	0,000000	0,000000	$p < 0,001$
<b>IL-10, нг/мл</b> IL-10, ng/mL	0,001823	0,036068	$p < 0,01$

**ТАБЛИЦА 4. ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ЛЕЙКОЦИТОВ ( $\times 10^9/\text{л}$ ) КРОВИ КРЫС В РАЗНЫХ ГРУППАХ,  $M \pm m$**

TABLE 4. DYNAMICS OF CHANGES IN THE LEVEL OF LEUKOCITES ( $\times 10^9/\text{L}$ ) IN THE BLOOD OF RATS IN DIFFERENT GROUPS,  $M \pm m$

Группы эксперимента Experiment groups	Время от начала введения триггера воспаления Time from start of inflammatory trigger administration							
	12 ч 12 h	1-е сутки 1 <sup>st</sup> day	2-е сутки 2 <sup>nd</sup> day	3-е сутки 3 <sup>rd</sup> day	5-е сутки 5 <sup>th</sup> day	7-е сутки 7 <sup>th</sup> day	9-е сутки 9 <sup>th</sup> day	12-е сутки 12 <sup>th</sup> day
Основная Main n = 57	6,567 $\pm 0,600$	10,487 $\pm 1,744$	9,038 $\pm 1,050$	7,871 $\pm 1,548$	13,817** $\pm 1,518$	9,417 $\pm 1,382$	7,875 $\pm 1,349$	14,733* $\pm 3,042$
Сравнения Comparison n = 58	9,900* $\pm 1,014$	10,975 $\pm 0,429$	7,213 $\pm 1,022$	10,357 $\pm 2,147$	11,643 $\pm 0,713$	8,943 $\pm 0,964$	7,875 $\pm 1,349$	7,317 $\pm 1,098$
Контроль Control n = 11	6,910 $\pm 0,694$							

Примечание. \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,001$ , достоверное отличие от контроля.

Note. \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.001$ , significant difference from control.

**ТАБЛИЦА 5. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС (n = 58) С МОДЕЛЬЮ АРТИФИЦИАЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ В ДИНАМИКЕ,  $M \pm m$**

TABLE 5. CONTENT OF CYTOKINES IN THE BLOOD SERUM OF RATS (n = 58) WITH A MODEL OF ARTIFICIAL INFLAMMATION IN DYNAMICS,  $M \pm m$

Срок воспаления Term of inflammation	TNF $\alpha$ , нг/мл TNF $\alpha$ , ng/mL	IL-1 $\beta$ , нг/мл IL-1 $\beta$ , ng/mL	IL-6, нг/мл IL-6, ng/mL	IL-4, нг/мл IL-4, ng/mL	IL-10, нг/мл IL-10, ng/mL	Интерлейкиновый баланс Interleukin balance (TNF $\alpha$ + IL-1 $\beta$ + IL-6) / (IL-4 + IL-10)
12 ч 12 h	0,813 $\pm 0,181$	0,041 $\pm 0,013$	0,650 $\pm 0,364$	1,987 $\pm 0,146$	0,235 $\pm 0,023$	0,686** $\pm 0,219$
1-е сутки 1 <sup>st</sup> day	0,656 $\pm 0,219$	0,103 $\pm 0,015$	1,137* $\pm 0,218$	2,087 $\pm 0,248$	0,177 $\pm 0,014$	0,891** $\pm 0,142$
2-е сутки 2 <sup>nd</sup> day	0,787 $\pm 0,219$	0,104 $\pm 0,021$	1,606** $\pm 0,205$	1,950 $\pm 0,011$	0,269* $\pm 0,017$	0,166 $\pm 0,210$
3-е сутки 3 <sup>rd</sup> day	0,080 $\pm 0,060$	0,034 $\pm 0,001$	0,257 $\pm 0,173$	4,986 $\pm 3,001$	0,162 $\pm 0,027$	0,105 $\pm 0,049$
5-е сутки 5 <sup>th</sup> day	0,250 $\pm 0,196$	0,043 $\pm 0,016$	0,073 $\pm 0,284$	2,017 $\pm 0,160$	0,163 $\pm 0,015$	0,494 $\pm 0,139$
7-е сутки 7 <sup>th</sup> day	1,275 $\pm 0,748$	0,321** $\pm 0,157$	2,433 $\pm 1,035$	2,350 $\pm 0,106$	0,298** $\pm 0,083$	1,559** $\pm 0,345$
9-е сутки 9 <sup>th</sup> day	0,243 $\pm 0,204$	0,076 $\pm 0,030$	1,207 $\pm 0,506$	2,514 $\pm 0,120$	0,231 $\pm 0,057$	0,573** $\pm 0,188$
12-е сутки 12 <sup>th</sup> day	1,533 $\pm 1,533$	0,107 $\pm 0,087$	5,255** $\pm 2,475$	2,700 $\pm 0,321$	0,220 $\pm 0,119$	2,363** $\pm 0,230$
Контроль Control	0,350 $\pm 0,115$	0,0200 $\pm 0,007$	0,200 $\pm 0,107$	1,870 $\pm 0,147$	0,192 $\pm 0,029$	0,230 $\pm 0,007$

Примечание. См. примечание к таблице 4.

Note. As for Table 4.

ТАБЛИЦА 6. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС (n = 58) В ГРУППЕ СРАВНЕНИЯ, M±m

TABLE 6. CONTENT OF CYTOKINES IN THE BLOOD SERUM OF RATS (n = 58) IN THE COMPARISON GROUP, M±m

Срок воспаления Term of inflammation	TNF $\alpha$ , нг/мл TNF $\alpha$ , ng/mL	IL-1 $\beta$ , нг/мл IL-1 $\beta$ , ng/mL	IL-6, нг/мл IL-6, ng/mL	IL-4, нг/мл IL-4, ng/mL	IL-10, нг/мл IL-10, ng/mL	Интерлейкиновый баланс Interleukin balance (TNF $\alpha$ + IL-1 $\beta$ + IL-6) / (IL-4 + IL-10)
12 ч 12 h	0,169 ±0,093	0,014 ±0,009	0,050 ±0,033	1,875 ±0,106	0,249 ±0,074	0,111* ±0,051
1-е сутки 1 <sup>st</sup> day	0,031 ±0,031	0,036 ±0,021	0,144 ±0,070	1,800 ±0,122	0,098 ±0,018	0,127 ±0,048
2-е сутки 2 <sup>nd</sup> day	0,188 ±0,083	0,053 ±0,011	0,319 ±0,199	2,025 ±0,070	0,183 ±0,054	0,257 ±0,097
3-е сутки 3 <sup>rd</sup> day	0,629 ±0,519	0,083 ±0,025	3,729 ±2,137	1,943 ±0,129	0,203 ±0,034	1,722 ±0,909
5-е сутки 5 <sup>th</sup> day	0,083 ±0,054	0,143** ±0,039	3,675 ±3,295	1,787 ±0,301	0,201 ±0,055	4,084 ±3,841
7-е сутки 7 <sup>th</sup> day	0,00 ±0,000	0,026 ±0,021	1,207 ±1,013	2,186 ±0,108	0,167 ±0,026	0,481 ±0,389
9-е сутки 9 <sup>th</sup> day	0,057 ±0,057	0,081* ±0,021	0,757 ±0,450	2,600* ±0,239	0,173 ±0,068	0,322 ±0,16
12-е сутки 12 <sup>th</sup> day	0,958 ±0,381	0,172** ±0,020	0,167± 0,167	2,333* ±0,080	0,105 ±0,044	0,549 ±0,164
Контроль Control	0,350 ±0,115	0,020 ±0,007	0,200 ±0,107	1,870 ±0,147	0,192 ±0,029	0,230 ±0,007

Примечание. См. примечание к таблице 4.

Note. As for Table 4.

ская система, которая вырабатывает противовоспалительные цитокины [6, 7, 9, 13]. Интерлейкиновый профиль противовоспалительных цитокинов характеризовался следующими особенностями. Уровень IL-4 на 3-и сутки эксперимента в основной группе был в 2,5 раза выше, чем в группе сравнения (4,986±3,001 нг/мл и 1,943±0,129 нг/мл соответственно). Лишь на 2-е и 9-е сутки эксперимента показатели IL-4 в обеих группах были сопоставимы. Динамика уровня IL-10 в обеих группах не отмечалась существенным отличием от контрольных значений.

Проводя сравнительную характеристику интерлейкинового баланса в динамике видно, что через 12 часов от начала эксперимента этот показатель составил в основной группе и в группе сравнения 0,686±0,219 и 0,111±0,051, а в 1-й день числа были равны 0,891±0,142 и 0,257±0,097 (табл. 5, 6). На 2-е сутки этот показатель в основной группе (0,166±,210) превышал не только контрольные значения, но и аналогичные данные в группе сравнения. Подъем значений в группе с моделью АГВЗМТ отмечен на 7-е сутки

(1,55±0,34) и 12-е сутки (2,363±0,230), превышая норму в 10 раз. Такая картина отражает процесс генерализации гнойной инфекции и служит прогностическим критерием летального исхода. В группе сравнения в течение первых 2 суток отмечается сниженный показатель (0,25±0,09) по отношению к группе контроля, а затем резкий подъем лишь к 5-м суткам (4,08±3,84), значительно превышающий показатели основной группы. К 7-м суткам происходило резкое снижение ИБ и такая тенденция сохранялась до 12-х суток (0,54±0,16).

Таким образом, неблагоприятный исход хирургической инфекции происходил в результате цитокинового дисбаланса и проявлялся в изменении уровней ИЛ, ответственных за развитие гуморального типа иммунного ответа, нарушении функции антителопродукторов. Это могло инициировать дальнейшую прогрессию воспаления, клинически создавая фон многократного превышения нормы с нарушением витальных функций и неблагоприятного исхода, как это наблюдалось у крыс с моделью АГВЗМТ.

## Выводы

1. Течение искусственного воспаления, вызванного введением в мягкие ткани ротовой жидкости (модель АГВЗМТ), уже на 3-и сутки приводит к развитию выраженного воспаления, подтверждающееся выраженной экспрессией цитокинов, достоверно превышающей аналогичные показатели в группе сравнения, где в мягкие ткани вводился микст условно-патогенных микробов.

2. Интерлейкиновый баланс является наиболее информативным цитокиновым параметром, показатель которого в основной группе в первые сутки в 7 раз, а к 12-м суткам в 5 раз превышал таковой в группе сравнения, что под-

тверждалось развитием гнойно-септических осложнений и высокой степенью летальности в группе АГВЗМТ.

3. Показатели интерлейкинового баланса в комплексе с другими лабораторными маркерами воспаления позволяют использовать их в качестве раннего диагностического критерия прогноза развития тяжелых послеоперационных осложнений в результате гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей не только в рамках эксперимента, но и экстраполировать эти данные в клинические условия. Это позволит на более ранних сроках принять необходимые меры по выбору оптимальной тактики хирургического лечения, иммунотерапии и реабилитации.

## Список литературы / References

1. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант. 2008. 552 с. [Ketlinskii S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines]. St. Petersburg: Foliant, 2008. 552 p.
2. Коваль А.Н., Мелконян Г.Г., Ташкинов Н.В., Стрельникова Н.В. Способ получения лабораторной модели артифициального флегмонозного гнойного воспаления мягких тканей у крыс на фоне искусственной иммуносупрессии. Патент на изобретение RUS № 2581255, 23.03.2016. [Koval A.N., Melkonyan G.G., Tashkinov N.V., Strelnikova N.V. A method for obtaining a laboratory model of artificial phlegmonous purulent inflammation of soft tissues in rats against the background of artificial immunosuppression. Patent 2581255 RUS, 23.03.2016.
3. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция: руководство для врачей. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 1990. 592 с. [Kuzin M.I., Kostyuchenok B.M. Wounds and wound infection: Guide for doctors. 2<sup>nd</sup> ed., reprint. and add.]. Moscow: Meditsina, 1990. 592 p.
4. Лазарев С.М., Гамзатов Х.А. Роль цитокинов в развитии и лечении перитонита // Вестник хирургии им. И.И. Грекова, 2008. Т. 167, № 5. С. 109-113. [Lazarev S.M., Gamzatov Kh.A. The role of cytokines in the development and treatment of peritonitis. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova = Grekov's Bulletin of Surgery*, 2008, Vol. 167, no. 5, pp. 109-113. (In Russ.)]
5. Лучкевич В.С., Самодова И.Л. Основы медицинской статистики. Учебно-методическое пособие / Под ред. В.С. Лучкевича. СПб.: СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2014. 32 с. [Luchkevich V.S., Samodova I.L. Fundamentals of medical statistics: educational and methodical manual. Teaching aid / Ed. V.S. Luchkevich]. St. Petersburg: I. Mechnikov Northwestern State Medical University, 2014, 32 p.
6. Определение цитокинового баланса при оценке состояния здоровья у работников промышленных предприятий: Методические рекомендации. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. 15 с. [Determination of cytokine balance in assessing the health status of industrial workers: Methodological recommendations]. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор, 2012. 15 p.
7. Останин А.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Шевела Е.Я., Курганова Е.В., Стрельцова Е.И., Черных Е.Р. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии у больных с гнойно-хирургической патологией // Цитокины и воспаление, 2002. № 1. С. 38-45. [Ostanin A.A., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Shevela E.Ya., Kurganova E.V., Streltsova E.I., Chernykh E.R. Cytokine-mediated mechanisms of development of systemic immunosuppression in patients with surgical infections. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2002, no. 1, pp. 38-45. (In Russ.)]
8. Романова Ю.М., Щегловитова О.Н., Бошнаков Р.Х. Стимуляция бактериального роста цитокином ФНО $\alpha$  в системе *in vitro* // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология, 2005. № 2. С. 37-39. [Romanova Yu.M., Shcheglovitova O.N., Boshnakov R.H. Stimulation of bacterial growth by cytokine TNF $\alpha$  in the system *in vitro*. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2005, no. 2, pp. 37-39. (In Russ.)]
9. Черных Е.Р., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Пальцев А.В., Останин А.А. Цитокиновый баланс в патогенезе системного воспалительного ответа: новая мишень иммунотерапевтических воздействий при лечении сепсиса // Медицинская иммунология, 2001. Т. 3, № 3. С. 415-429. [Chernykh E.R., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Paltsev A.V., Ostanin A.A. Cytokine balance in the pathogenesis of systemic inflammatory response:

a new target of immunotherapeutic effects in the treatment of sepsis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2001, Vol. 3, no. 3. pp. 415-429. (In Russ.)]

10. Axelsson J., Ferreira M., Adolfsson L., McCrea K., Ward R., Larm O. Cytokines in blood from septic patients interact with surface-immobilized heparin. *ASAIO J.*, 2010, Vol. 56, no. 1, pp. 48-51.

11. Casey L.C. Immunologic response to infection and its role in septic shock. *Crit. Care Clin.*, 2000, Vol. 16, pp. 193-213.

12. Cinel I., Steven M. O., Molecular Biology of Inflammation and Sepsis. *Crit. Care Med.*, 2009, Vol. 37. no. 1, pp. 291-304.

13. Dinarello C.A. Proinflammatory cytokines. *Chest.*, 2000, Vol. 118, pp. 503-508.

14. Kishimoto T. Interleukin-6: discovery of pleiotropic cytokine. *Arthritis Res. Ther.*, 2006, Vol. 8, no. 2, pp. 2-14.

---

**Авторы:**

**Соловьева А.С.** — д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Хабаровск, Россия

**Мелконян Г.Г.** — заочный аспирант кафедры общей и клинической хирургии ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; старший ординатор хирургического отделения ФГКУ «301 военный клинический госпиталь», г. Хабаровск, Россия

**Коваль А.Н.** — доцент кафедры общей и клинической хирургии ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; врач-хирург отделения гнойной хирургии ФГКУ «301 военный клинический госпиталь», г. Хабаровск, Россия

**Ташкинов Н.В.** — д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, заведующий кафедрой общей и клинической хирургии ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Хабаровск, Россия

**Рукина Н.Ю.** — ассистент кафедры биологической химии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующая лабораторным отделением ФГКУ «301 военный клинический госпиталь», г. Хабаровск, Россия

**Шокур О.А.** — доцент кафедры школы биомедицины департамента фармации и фармакологии ФГАУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

**Сапожников Ю.А.** — ассистент кафедры общей и клинической хирургии ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Хабаровск, Россия

**Authors:**

**Solovyeva A.S.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation

**Melkonyan G.G.**, Postgraduate Student, Department of General and Clinical Surgery, Far Eastern State Medical University; Senior Resident, Surgical Department, 301<sup>st</sup> Military Clinical Hospital, Khabarovsk, Russian Federation

**Koval A.N.**, Associate Professor, Department of General and Clinical Surgery, Far Eastern State Medical University; Surgeon, Department of Purulent Surgery, 301<sup>st</sup> Military Clinical Hospital, Khabarovsk, Russian Federation

**Tashkinov N.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of General and Clinical Surgery, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation

**Rukina N.Yu.**, Assistant Professor, Department of Biological Chemistry and Clinical Laboratory Diagnostics, Far Eastern State Medical University; Head, Laboratory Department, 301<sup>st</sup> Military Clinical Hospital, Khabarovsk, Russian Federation

**Shokur O.A.**, Associate Professor, School of Biomedicine, Department of Pharmacy and Pharmacology, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

**Sapozhnikov Yu.A.**, Assistant Professor, Department of General and Clinical Surgery, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation

---

Поступила 19.03.2021

Отправлена на доработку 17.12.2021

Принята к печати 24.02.2022

---

Received 19.03.2021

Revision received 17.12.2021

Accepted 24.02.2022