Anna Junga

**INTRAABDOMINĀLU SAAUGUMU
VEIDOŠANĀS UN NORISES KOMPLEKSIE
MORFOPATOĢENĒTISKIE ASPEKTI
BĒRNIEM LĪDZ GADA VECUMAM**

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – morfoloģija

Rīga, 2019

RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Anna Junga

INTRAABDOMINĀLU SAAUGUMU
VEIDOŠANĀS UN NORISES KOMPLEKSIE
MORFOPATOĢENĒTISKIE ASPEKTI
BĒRNIEM LĪDZ GADA VECUMAM

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – morfoloģija

Rīga, 2019

Promocijas darbs izstrādāts: Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūtā, Morfoloģijas katedrā.

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. med., Dr. habil. med. profesore **Māra Pilmane**,

Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. asociētā profesore **Zane Ābola**,

Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Darba zinātniskais konsultants:

Dr. med. **Olafs Volrāts**,

Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. vet. profesors **Ilmārs Dūrītis**,

Latvijas Lauksaimniecības universitāte

Dr. med. profesore **Renata Šimkūnaitė-Rizgelienė**,

Viļņas Universitāte, Lietuva

Dr. med. profesors **Andres Arend**,

Tartu Universitāte, Igaunija

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2019. gada 8. novembrī plkst. 14.00
Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē Rīgā,
Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
www.rsu.lv.

Promocijas padomes sekretārs:

Dr. sc. soc. docents **Andrejs Ivanovs**

SATURS

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI	4
IEVADS	5
1. MATERIĀLS UN METODES	9
1.1. Morfoloģiski pētāmais materiāls	9
1.2. Morfoloģiskās metodes	10
1.2.1. Audu materiāla fiksācija	10
1.2.2. Rutīnas histoloģiskā krāsošanas metode	10
1.2.3. Imūnhistoķīmijas metode un reaģenti	11
1.3. Datu apstrādes metodes	15
1.3.1. Puskvantitatīvā skaitīšanas metode	15
1.3.2. Statistiskās metodes	16
2. REZULTĀTI	17
2.1. Morfoloģiskā atradne	17
2.2. Imūnhistoķīmiski noteikto faktoru raksturojums	17
2.2.1. Audu augšanas faktori un to receptori	17
2.2.2. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (<i>VEGF</i>)	20
2.2.3. Difūzās neiroendokrīnās sistēmas vispārējie marķieri	21
2.2.4. Audu iekaisuma citokīni	23
2.2.5. Cilvēka beta defensīns-2 (<i>HBD-2</i>)	27
2.2.6. Audu deģenerācijas enzīmi un to inhibitori	28
2.3. Imūnhistoķīmiski noteikto marķieru savstarpējo korelāciju izvērtēšanas dati	30
3. DISKUSIJA	33
4. SECINĀJUMI	51
LITERATŪRAS SARAKSTS	54
PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU	62
PATEICĪBAS	66

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

Abreviatūra	Nosaukums angļu valodā	Skaidrojums latviešu valodā
<i>CgA</i>	<i>Chromogranin A</i>	Hromogranīns A
<i>FGF-2</i>	<i>Basic fibroblast growth factor</i>	Bāziskais fibroblastu augšanas faktors
<i>FGFR1</i>	<i>Fibroblast growth factor receptor 1</i>	Fibroblastu augšanas faktoru receptors 1
<i>HBD-2</i>	<i>Human beta defensin-2</i>	Cilvēka beta defensīns-2
<i>HGF</i>	<i>Hepatocyte growth factor</i>	Hepatocītu augšanas faktors
<i>IFN-γ</i>	<i>Interferon-γ</i>	Interferons-γ
<i>IL-1</i>	<i>Interleukin-1</i>	Interleikīns-1
<i>IL-4</i>	<i>Interleukin-4</i>	Interleikīns-4
<i>IL-6</i>	<i>Interleukin-6</i>	Interleikīns-6
<i>IL-7</i>	<i>Interleukin-7</i>	Interleikīns-7
<i>IL-8</i>	<i>Interleukin-8</i>	Interleikīns-8
<i>IL-10</i>	<i>Interleukin-10</i>	Interleikīns-10
<i>MMPs</i>	<i>Matrix metalloproteinases</i>	Matrices metaloproteināzes
<i>MMP-2</i>	<i>Matrix metalloproteinase-2</i>	Matrices metaloproteināze-2
<i>PGP 9.5</i>	<i>Protein gene product 9.5</i>	Proteīna gēnu produkts 9,5
<i>TGFβ</i>	<i>Transforming growth factor beta</i>	Transformējošais augšanas faktors beta
<i>TIMPs</i>	<i>Tissue inhibitors of metalloproteinases</i>	Matrices metaloproteināžu audu inhibitori
<i>TIMP-2</i>	<i>Tissue inhibitor of metalloproteinase-2</i>	Matrices metaloproteināzes-2 audu inhibitors
<i>TNFα</i>	<i>Tumour necrosis factor alpha</i>	Tumoru nekrozes faktors alfa
<i>VEGF</i>	<i>Vascular endothelial growth factor</i>	Vaskulārais endotēlija augšanas faktors

IEVADS

Intraabdomināli saaugumi ir fibrozi savienojumi starp vēdera dobuma orgāniem un/vai vēdera dobuma orgāniem un vēdera dobuma sienu. Intraabdomināli saaugumi var būt iedzimti vai iegūti, iegūtus saaugumus iedala iekaisuma izraisītos un postoperatīvos saaugums. Visbiežāk saaugumu izcelsmi saista ar vēderplēves bojājumu un tā patoloģisku dzīšanu (Schanaider et al., 2016; Zhang H. et al., 2016). Intraabdominālu saaugumu morfofopatoģenēze ir komplekss process, kas tiek raksturots ar ekstracelulārās matricies uzkrāšanos, audu hipoksiju un iekaisuma atbildes indukciju (Christodoulidis et al., 2013; Coccolini et al., 2013).

Līdz šim visvairāk pētītais augšanas faktors saaugumu gadījumā ir transformējošais augšanas faktors beta (*TGFβ*), kurš, nomācot fibrinolīzi, regulē fibrotiskos procesus (Chegini 2008). Ir pētīti arī citi augšanas faktori – hepatocītu augšanas faktors (*HGF*) nomāc pēcoperācijas saaugumu veidošanos (Kosaka et al., 2008), bāziskais fibroblastu augšanas faktors (*FGF-2*) samazina iekaisuma citokīnu interleikīna-1 beta (*IL-1β*) un interleikīna-6 (*IL-6*) ekspresiju (Kashpur et al., 2013), savukārt fibroblastu augšanas faktora receptora 1 (*FGFR1*) pieaugums izraisa brūču dzīšanas defektus (Meyer et al., 2012).

Saaugumu audos ir raksturīga augsta vaskulārā endoteliālā augšanas faktora (*VEGF*) ekspresija (Bi et al., 2017), kas regulē angiogēnēzi un skābekļa piegādi bojātajiem audiem. Peritoneālos saaugumos ir identificētas nervu šķiedras, bet līdz šim nav noteikti neiroendokrīnās sistēmas vispārējie marķieri.

Joprojām tiek diskutēts par iekaisuma atbildes iesaisti intraabdominālu saaugumu patoģenēzē. *IL-1* un tumoru nekrozes faktora alfa (*TNFα*) samazināšana nomāc iekaisumu un saaugumu veidošanos (Liakakos et al., 2001; Bayhan et al., 2016; Wei et al., 2016; Zhang H. et al., 2016). Interleikīns-4 (*IL-4*) aktivē fibroblastu proliferāciju, miofibroblastu diferenciāciju un kolagēna

produkciju, tādējādi sekmējot fibrozes attīstību (Luzina et al., 2012). Interleikīns-8 (*IL-8*) rada fibrozi veicinošus apstākļus (Zimmermann et al., 2011) un arī *IL-6* korelē ar augstu kolagēna veidošanos un uzkrāšanos, turklāt to ievērojami vairāk izdala saaugumu fibroblasti (Vallée et al., 2017). Interleikīns-7 (*IL-7*) veicina *IL-4* un interleikīna-10 (*IL-10*) veidošanos (Shmarov et al., 2016). *IL-10* ir būtisks saaugumus ierobežojošs faktors, tā pielietošana eksperimenta dzīvniekiem sekmējusi fibrozes nomākumu (Onishi et al., 2015). Tomēr iekaisuma citokīnu mijiedarbība intraabdominālu saaugumu gadījumā nav skaidra, jo trūkst kompleksu datu. Nav analizēta arī cilvēka beta defensīna-2 (*HBD-2*), galvenā peritoneālās membrānas defensīna, sastopamība saaugumos.

Mūsdienās ir aktuāli pētījumi par matricas metaloproteināžu un to audu inhibitoru nozīmi saaugumu gadījumā, jo balanss starp šiem enzīmiem nodrošina ekstracelulārās matricas veidošanos un degradāciju (Ucar et al., 2010). Matricas metaloproteināze-2 (*MMP-2*) tiek vērtēta kā potenciāls marķieris un mērķis fibrozes terapijā (Horejs et al., 2017).

Jāatzīmē, ka līdz šim galvenokārt pētīti postoperatīvie saaugumi pieaugušajiem vai eksperimentu dzīvniekiem, bet ļoti maz ir pētījumu par saaugumiem bērna vecumā, trūkst vadlīniju intraabdominālu saaugumu veidošanās un attīstības noteikšanai, kas savukārt ietekmē to diagnostikas iespējas un ārstēšanas taktikas izvēli. Taču mūsdienās ir iespējams izpētīt morfopatogēnēzes procesus šūnu līmenī intraabdominālu saaugumu gadījumā.

Pētījuma **mērķis** bija noteikt un aprakstīt morfopatogēnētiskos faktorus, kas saistīti ar intraabdominālu saaugumu veidošanos un norisi, kā arī aprakstīt to savstarpējo mijiedarbību.

Pētījuma mērķa sasniegšanai tika izvirzīti sekojoši **uzdevumi**:

1. Noteikt sadalījumu šādiem morfopatogēnētiskajiem faktoriem intraabdominālu saaugumu audos:

- a) audu augšanas faktoriem un to receptoriem (*TGFβ*, *HGF*, *FGF-2*, *FGFR1*);
 - b) angiogēnēzi ietekmējošiem (*VEGF*) faktoriem;
 - c) difūzās neiroendokrīnās sistēmas vispārējiem marķieriem (*PGP 9.5*, *CgA*);
 - d) iekaisumu regulējošiem marķieriem (*IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-7*, *IL-8*, *IL-10*, *TNFα*);
 - e) antimikrobās aizsardzības proteīnam (*HBD-2*);
 - f) audu deģenerācijas enzīmam (*MMP-2*) un tā inhibitoram (*TIMP-2*).
2. Noteikt visu iepriekš minēto faktoru sadalījumu kontroles grupas audos.
3. Izvērtēt visu iepriekš minēto faktoru iespējamās savstarpējās korelācijas.

Darba hipotēze

Audu augšanas, deģenerācijas, fibrozi modulējošiem faktoriem un inervāciju, angiogēnēzi, iekaisumu un antimikrobo aizsardzību regulējošiem faktoriem ir predisponējoša un diagnostiska nozīme intraabdominālu saaugumu veidošanās un norises procesā.

Darba novitāte

Šajā pētījumā pirmo reizi ar imūnhistoķīmijas metodi izpētīti intraabdominālu saaugumu audi 49 pacientiem līdz viena gada vecumam. Noteikts *TGFβ*, *HGF*, *FGF-2*, *FGFR1*, *VEGF*, *PGP 9.5*, *CgA*, *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-7*, *IL-8*, *IL-10*, *TNFα*, *HBD-2*, *MMP-2* un *TIMP-2* imūnreaktīvo struktūru relatīvais daudzums saaugumu audos un vizualizētā atradne dokumentēta mikrofotogrāfijās. Līdz šim par saaugumiem publicētajā literatūrā pētīts vien kāds atsevišķs faktors, bet nav atrodamī kompleksi dati par saaugumus

ietekmējošiem/regulējošiem faktoriem. Jāatzīmē, ka līdz šim veiktajos pētījumos izmantoti dzīvnieku modeļi vai pieaugušo audi, tādēļ šī pētījuma materiāls vērtējams kā unikāls.

Personīgais ieguldījums

Darba autore ir piedalījusies visu pētījuma sadaļu izstrādē, veikusi imūnhistoķīmisko vizualizāciju un novērtēšanu, zinātnisko datu ieguvu, apstrādi un to statistisko analīzi. Autore ir sarakstījusi šo darbu un ir visu darbā iekļauto mikrofotogrāfiju autore.

Ētiskie aspekti

Pētījums ir veikts saskaņā ar Helsinku deklarāciju un Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas 2007. gada 10. maija lēmumu.

Promocijas darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā. Tas sastāv no 5 nodaļām: literatūras apskata, materiāla un metodēm, rezultātiem, diskusijas un secinājumiem. Promocijas darba apjoms ir 139 lapaspuses, darbā ir 31 tabula un 56 attēli (mikrofotogrāfijas). Literatūras saraksts sastāv no 266 avotiem.

1. MATERIĀLS UN METODES

1.1. Morfoloģiski pētāmais materiāls

Materiāls morfoloģiskajiem pētījumiem tika vākts Bērnu klīniskās universitātes slimnīcā laika posmā no 2011. gada martam līdz 2012. gada septembrim. Saaugumu audi tika iegūti abdominālās operāciju laikā no pacientiem, kuriem tika koriģēta pilnīga vai daļēja kuņģa zarnu trakta neaurejamība. Tika iegūti audu paraugi no 49 unikāliem pacientiem vecumā līdz vienam gadam, sešiem no pacientiem tika veiktas arī atkārtotas operācijas un iegūts papildus audu materiāls, līdz ar to kopā tika savākti 57 saaugumu audu paraugi.

Rutīnas histoloģiskās un imūnhistoķīmiskās metodes veikšanai pētāmais materiāls tika apstrādāts Rīgas Stradiņa universitātes (RSU) Anatomijas un antropoloģijas institūta Morfoloģijas laboratorijā. Pēc primāras mikroskopiskas izvērtēšanas 50 paraugi tika novērtēti kā atbilstoši morfoloģiskai analīzei un iekļauti pētījumā. 21 audu paraugs vērtējams kā **iedzimti saaugumi** (embrionālas vēderplēves adhēzijas, Leda (*Ladd*) saite), savukārt 29 audu paraugi – kā **iegūti saaugumi**, jo saistīti ar kuņģa zarnu trakta perforācijām, difūziem peritonītiem un atkārtotām operācijām.

Visbiežāk saaugumi lokalizējās starp tievo zarnu cilpām tukšās zarnas (*jejunum*) un līkumainās zarnas (*ileum*) proksimālajā daļā (21 gadījums) vai divpadsmitpirkstu zarnas (*duodenum*) apvidū (10 gadījumi). Četros gadījumos saaugumu materiāls tika iegūts no līkumainās zarnas (*ileum*) distālās daļas. Trīspadsmit gadījumos saaugumi izveidoja Leda (*Ladd*) saiti, bet vēl divos gadījumos saaugumu veidošanā bija iesaistīta vēdera priekšējā siena.

Kontrolei tika izmantots astoņu pacientu vēderplēves audu materiāls, kas iegūts, veicot cirkšņa trūces plastiku.

Visi pacienti gan pētījuma grupā, gan kontroles grupā bija vecumā līdz vienam gadam.

1.2. Morfoloģiskās metodes

1.2.1. Audu materiāla fiksācija

Audu materiāla fiksācija 24 stundas ar Stefanini šķīdumu (Stefanini, et al., 1967) tika veikta Bērnu klīniskās universitātes slimnīcas Ķirurģijas klīnikā uzreiz pēc paraugu savākšanas abdominālu operāciju laikā. Pēc fiksācijas audu materiāls tika nogādāts Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta Morfoloģijas laboratorijā, lai veiktu tālāku apstrādi.

Fiksētais pētījuma materiāls tika dehidratēts, pielietojot spirta šķīdumus no 70° līdz 96°, un attaukots ksilola šķīdumā. Tad audi vienu stundu tika izturēti parafīnā I un divas stundas parafīnā II. Parafīna blokus ieguva parafīnu ielejot speciālās kasetēs ar dozatora palīdzību. No parafīna blokiem ar pusautomātiskā rotācijas mikrotoma (*Leica RM2245, Leica Biosystems Richmond Inc., Amerikas Savienotās Valstis*) palīdzību tika sagatavoti 3-4 µm plāni audu griezumī, ko pārnesa uz priekšmetstikliņiem (*HistoBond®+, Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Vācija*) un ievietoja žāvēšanai termostātā 56°C 20-60 minūtes. Tālākā apstrāde tika veikta atbilstoši rutīnas histoloģiskās krāsošanas vai imūnhistoķīmijas metodei.

1.2.2. Rutīnas histoloģiskā krāsošanas metode

Pārskata morfoloģiskās ainas iegūšanai tika veikta audu rutīnas histoloģiskā krāsošana. Uz priekšmetstikliņiem termostātā izžāvētie audu griezumī tika deparafinizēti ksilolā, dehidratēti ar dažādas koncentrācijas

spirtiem un sekojoši krāsoti ar hematoksilīnu (*kods 05-M06002, Mayer's Hematoxylin, Bio Optica Milano S.p.A., Itālija*) un eozīnu (*kods 05-B10003, Eosin Y alcoholic solution, Bio Optica Milano S.p.A., Itālija*). Krāsošanai sekoja skalošana ar tekošu ūdeni, atūdeņošana ar dažādas koncentrācijas spirtiem un dzidrināšana ar karboksilolu un ksilolu. Pēc tam tika uzpilināta histoloģiskā līme (*kods 6900002, Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Vācija*) un paraugi pārklāti ar segstikliņiem (*Carl Roth GmbH + Co, Vācija*) (Lillie et al., 1976; Fischer et al., 2008).

Rezultātā tika iegūti pārskata mikropreparāti, kuros bazofilās struktūras krāsojās zili violetas, bet acidofilās struktūras – sārtas. Nokrāsotie preparāti tika analizēti ar gaismas mikroskopu (*Leica DM500RB, Leica Biosystems Richmond Inc., Amerikas Savienotās Valstis*), pēc tam apstrādāti ar programmu Image-Pro Plus un fiksēti ar digitālo kameru (*Leica DC 300F, Leica Microsystem AG, Vācija*).

1.2.3. Imūnhistokīmijas metode un reaģenti

Ar biotīna-streptavidīna imūnhistokīmisko metodi (Hsu et al., 1981) audu paraugos tika noteikti:

- **transformējošais augšanas faktors β** (*TGF β* , kods orb7087, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:100, *Biorbyt Ltd., Lielbritānija*);
- **hepatocītu augšanas faktors** (*HGF*, kods AF-294-NA, iegūts no kazas, darba atšķaidījums 1:300, *R&D Systems, Vācija*);
- **bāziskais fibroblastu augšanas faktors** (*FGF-2*, kods ab16828, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:200, *Abcam, Lielbritānija*);
- **fibroblastu augšanas faktora receptors 1** (*FGFR1*, kods ab10646, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:100, *Abcam, Lielbritānija*);

- **vaskulārais endoteliālais augšanas faktors** (*VEGF*, kods orb191500, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:100, *Biorbyt Ltd.*, Lielbritānija);
- **proteīna gēnu produkts 9,5** (*PGP 9.5*, kods 439273A, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:100, *ZYMED Laboratories, Invitrogen Corporation*, ASV);
- **hromogranīns A** (*CgA*, kods 910216A, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:100, *Invitrogen Corporation*, ASV);
- **interleikīns-1 alfa** (*IL-1 α* , kods sc-9983, iegūts no peles, darba atšķaidījums 1:50, *Santa Cruz Biotechnology, Inc.*, ASV);
- **interleikīns-4** (*IL-4*, kods orb10908, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:100, *Biorbyt Ltd.*, Lielbritānija);
- **interleikīns-6** (*IL-6*, kods LS-B1582, iegūts no peles, darba atšķaidījums 1:50, *LifeSpan BioSciences, Inc.*, ASV);
- **interleikīns-7** (*IL-7*, kods orb48420, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:100, *Biorbyt Ltd.*, Lielbritānija);
- **interleikīns-8** (*IL-8*, kods orb39299, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:100, *Biorbyt Ltd.*, Lielbritānija);
- **interleikīns-10** (*IL-10*, kods ab34843, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:400, *Abcam*, Lielbritānija);
- **tumoru nekrozes faktors alfa** (*TNF α* , kods sc-52250, iegūts no peles, darba atšķaidījums 1:100, *Santa Cruz Biotechnology, Inc.*, ASV);
- **cilvēka beta defensīns-2** (*HBD-2*, kods sc-20798, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:100, *Santa Cruz Biotechnology, Inc.*, ASV);
- **matrices metaloproteināze-2** (*MMP-2*, kods orb11061, iegūts no truša, darba atšķaidījums 1:100, *Biorbyt Ltd.*, Lielbritānija);
- **matrices metaloproteināzes-2 audu inhibitors** (*TIMP-2*, kods sc-21735, iegūts no peles, darba atšķaidījums 1:50, *Santa Cruz Biotechnology, Inc.*, ASV).

Audu paraugu fiksācija, materiāla sagatavošana ieguldīšanai parafīna blokos un griezumu sagatavošana uz priekšmetstikliņiem tika veikta pēc iepriekš aprakstītās shēmas (sk. 1.2.1. nodaļu). Pēc tam uz priekšmetstikliņiem termostātā izžāvētie audu griezumi tika deparafinizēti ksilolā un dehidratēti ar dažādas koncentrācijas spirtiem. Deparafinizētie audi tika ievietoti turētājā un veikta skalošana ar TRIS bufera šķīdumu (kods 2017X12508, *Diapath S.p.A.*, Itālija) divas reizes pa piecām minūtēm, kam sekoja vārišana EDTA buferī (kods 2017X02239, *Diapath S.p.A.*, Itālija) mikroviļņu krāsnī līdz 20 minūtēm. Pēc paraugu atdzišanas tie tika mazgāti divas reizes pa piecām minūtēm ar TRIS bufera šķīdumu. Tad desmit minūtes tika bloķēta endogēnās peroksidāzes aktivitāte ar 3% peroksīda šķīdumu, kam sekoja skalošana ar TRIS bufera šķīdumu divas reizes pa piecām minūtēm. Fona krāsojuma mazināšanai 20 minūtes paraugiem tika pielietots bloķējošais serums. Visi audu paraugi tika inkubēti ar primāro antivielu vienu stundu. Visas pētījumā pielietotās antivielas tika atšķaidītas ar *Antibody Diluent* (kods 938B-05, *Cell MarqueTM*, Amerikas Savienotās Valstis).

Antivielām, kas iegūtas no **peles** vai **truša**, tika izmantota ***HiDef DetectionTM HRP Polymer*** (kods 954D-30, *Cell MarqueTM*, Amerikas Savienotās Valstis) krāsošanas sistēma. Pēc inkubācijas ar primāro antivielu un skalošanas TRIS mazgāšanas buferī trīs reizes, tika pievienots *HiDef DetectionTM* reakcijas amplifikators (kods 954D-31, *Cell MarqueTM*, Amerikas Savienotās Valstis) uz desmit minūtēm istabas temperatūrā. Pēc tam preparāti tika skaloti ar TRIS bufera šķīdumu trīs reizes pa piecām minūtēm, kam sekoja *HiDef DetectionTM HRP* polimēra iezīmētāja (kods 954D-32, *Cell MarqueTM*, Amerikas Savienotās Valstis) pievienošana un inkubēšana desmit minūtes istabas temperatūrā. Pēc inkubēšanas paraugus atkārtoti skaloja ar TRIS bufera šķīdumu trīs reizes pa piecām minūtēm. Tam sekoja audu pārklāšana ar *DAB Substrate Kit* hromogēno sistēmu (kods 957D-60, *Cell MarqueTM*, Amerikas Savienotās

Valstis) un inkubēšana istabas temperatūrā līdz desmit minūtēm, lai iegūtu pozitīvo struktūru krāsojumu brūnā krāsā.

Antivielām, kas iegūtas no **kazas**, tika izmantota **ImmunoCruz™ ABC** (kods sc-2023, *Santa Cruz Biotechnology, Inc.*, Amerikas Savienotās Valstis) krāsošanas sistēma. **ABC** krāsošanas sistēmas pielietošanas gadījumā mikropreparāti tika inkubēti ar 1,5 % bloķēšanas serumu TRIS bufera šķīdumā līdz vienai stundai istabas temperatūrā. Tad audu paraugi tika inkubēti ar primāro antivielu vienu stundu istabas temperatūrā, kam sekoja skalošana ar TRIS mazgāšanas buferi trīs reizes pa piecām minūtēm. Pēc tam paraugi tika inkubēti ar biotīnu saturošu sekundāro antivielu (biotinizētu kazas imunoglobulīnu) 30 minūtes un atkal skaloti TRIS bufera šķīdumā trīs reizes pa piecām minūtēm. Tad tika pievienots avidīna un biotīna-mārutku peroksidāzes komplekss un veikta paraugu inkubācija 30 minūtes istabas temperatūrā, pēc kā veikta skalošana ar TRIS bufera šķīdumu trīs reizes pa piecām minūtēm. Tam sekoja audu pārklāšana ar **DAB Substrate Kit** hromogēno sistēmu un inkubēšana istabas temperatūrā līdz desmit minūtēm, lai iegūtu pozitīvo struktūru krāsojumu brūnā krāsā.

Neatkarīgi no izmantotās krāsošanas sistēmas, pēc inkubācijas ar hromogēno substrātu, tika veikta paraugu skalošana tekošā ūdenī un kontrastkrāsošana ar hematoksilīnu (kods 05-M06002, *Mayer's Hematoxylin, Bio Optica Milano S.p.A.*, Itālija) divas minūtes. Beigās visi iegūtie preparāti tika atūdeņoti ar pieaugošas koncentrācijas (70°–96°) spirtu un dzidrināti ar karboksilolu un ksilolu. Pēc tam tika uzpilināta histoloģiskā līme un paraugi pārklāti ar segstikliņiem. Nokrāsotie preparāti tika analizēti ar gaismas mikroskopu (*Leica DM500RB, Leica Biosystems Richmond Inc.*, Amerikas Savienotās Valstis), pēc tam apstrādāti ar programmu Image Pro Plus un fiksēti ar digitālo kameru (*Leica DC 300F, Leica Microsystem AG*, Vācija).

Katrai preparātu sērijai tika pagatavota pozitīvā kontrole antivielu ražotājfirmu norādītajos audos, kuros vienmēr novērojama pozitīva reakcija. Savukārt kā negatīvā kontrole tika lietoti preparātu paralēlie griezumumi, kuros primāra antivielas tika aizstāta ar antivielu atšķaidītāju *Antobody Diluent*.

1.3. Datu apstrādes metodes

Pārskata griezumos visi mikropreparāti tika izvērtēti pēc sekojošiem kritērijiem:

- 1) pēc epitēlija šūnu formas (plakana vai apaļa);
- 2) pēc subepitēlija irdenajos nenoformētajos saistaudos esošo šūnu un šķiedru raksturojuma;
- 3) ir vai nav iekaisuma šūnu infiltrācija;
- 4) kāda ir vaskularizācija salīdzinājumā ar kontroles grupu.

Lai izvērtētu iekaisuma šūnu infiltrācijas pakāpi, tika noteikts leukocītu blīvums pēc sekojošas shēmas:

- minimāla infiltrācija (1): <10% iekaisuma šūnu redzes laukā;
- neizteikta infiltrācija (2): 10-25% iekaisuma šūnu redzes laukā;
- mērena infiltrācija (3): 26-50% iekaisuma šūnu redzes laukā;
- izteikta infiltrācija (4): >51% iekaisuma šūnu redzes laukā (Erben et al., 2014).

1.3.1 Puskvantitatīvā skaitīšanas metode

Imūnhistoķīmiski pozitīvo struktūru klātbūtne tika izvērtēta atbilstoši puskvantitatīvajai skaitīšanas metodei:

- 0 neviena pozitīvā struktūra redzes laukā;
- 0/+ retas pozitīvās struktūras redzes laukā;

+ maz pozitīvo struktūru redzes laukā;
+ / + + maz līdz vidēji daudz pozitīvo struktūru redzes laukā;
+ + vidēji daudz pozitīvo struktūru redzes laukā;
+ + / + + + vidēji daudz līdz daudz pozitīvo struktūru redzes laukā;
+ + + daudz pozitīvo struktūru redzes laukā;
+ + + / + + + + daudz līdz ļoti daudz pozitīvo struktūru redzes laukā;
+ + + + ļoti daudz pozitīvo struktūru redzes laukā (Pilmāne et al., 1995).

Struktūru daudzums tika analizēts piecos nejauši izvēlētos redzes laukos katrā audu griezumā, turpmākai analīzei tika pielietots vidējais struktūru daudzums no šiem redzes laukiem.

1.3.2. Statistiskās metodes

Pētījuma datu raksturošanai tika izmantotas aprakstošās statistikas metodes. Katra marķiera aprakstīšanai tika noteikta mediāna un starpkvartīļu amplitūda. Atšķirības starp pētījuma un kontroles grupas datiem tika analizētas, izmantojot Manna–Vitnija (*Mann–Whitney*) U testu (Riffenburgh, 2012a). Divu mainīgu lielumu savstarpējās atbilstības ciešuma izvērtēšanai tika izmantots Spīrmena (*Spearman*) rangu korelācijas koeficients (rs) (Riffenburgh, 2012b). Iegūtās korelācijas tika interpretētas sekojoši: 0-0,350 tika vērtēta kā vāja korelācija, 0,351-0,700 – vidēji cieša, 0,701-1 – cieša. Rezultātus uzskatīja par statistiski nozīmīgiem, ja p vērtība bija $< 0,05$. Statistiskā analīze tika veikta ar *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 23. versiju (IBM Corporations, Amerikas Savienotās Valstis).

2. REZULTĀTI

2.1. Morfoloģiskā atradne

Kontroles grupas pārskata preparātos, kas tika iegūti cirkšņa trūces plastikas laikā, konstatējām vispārpieņemtajai relatīvai normai atbilstošu histoloģisko atradni.

No normas atšķirīgas audu pārmaiņas bija vērojamas visu pētījumā iekļauto saaugumu pacientu audos. Saaugumu audos bija raksturīgi modificētas formas mezoteliocīti un fibroblasti. Tika vizualizēti haotiski novietoti, blīvi saistaudu šķiedru kūlīši un dažkārt arī lieli kolagēno šķiedru sakopojumi bez fibroblastiem.

Gandrīz visos pārskata paraugos konstatējām iekaisumu ar neitrofilo leukocītu un makrofāgu infiltrāciju. Vairāk nekā 50 % gadījumu iekaisums bija mērens vai izteikts. Daļai pacientu iekaisuma šūnas bija difūzi izvietotas, daļai – perivaskulāri. Bieži iekaisuma šūnas novietojās ap sklerotizētām arteriolām. Izteikta difūza iekaisuma gadījumā novērojām arī epitelioido šūnu klātbūtni.

Pārskata griezumos bieži novērojām pilnasinīgus asinsvadus, kā arī neoangioģenēzi.

2.2. Imūnhistoķīmiski noteikto faktoru raksturojums

2.2.1. Audu augšanas faktori un to receptori

Kontroles grupas audos *TGFβ* pozitīvās šūnas (fibroblasti, mezoteliocīti un endoteliocīti) tika novērotas maz līdz vidēji daudz (+/+).

Saaugumu grupā kopumā vidēji daudz (++) struktūras saturēja *TGFβ*. Visbiežāk tika novēroti *TGFβ* pozitīvi fibroblasti (sk. 2.1. att.), daļā no paraugiem arī pozitīvi endoteliocīti, makrofāgi un epitelioidās šūnas.

Salīdzinājumā ar kontroles grupu ***TGFβ*** pozitīvo struktūru **saaugumu grupā** bija **statistiski nozīmīgi vairāk** ($U = 50,50$; $p < 0,001$).

2.1. attēls. Daudz ***TGFβ*** pozitīvo fibroblastu, makrofāgu un saistaudu šķiedru 39 dienas veca pacienta saaugumos. ***TGFβ* IMH, X 400**

HGF pozitīvi fibroblasti un makrofāgi kontroles grupā tika novēroti reti (0/+), savukārt mezoteliocīti – maz līdz vidēji daudz (+/++).

Saaugumu audos *HGF* pozitīvie fibroblasti, makrofāgi un mezoteliocīti visbiežāk tika novēroti reti (0/+), pie tam ***HGF* pozitīvo mezoteliocītu** saaugumu grupā bija **statistiski nozīmīgi mazāk** ($U = 60,50$; $p = 0,001$). Atsevišķos audu paraugos bija vērojama fibroblastu izvietojšanās submezotēlijā (sk. 2.2. att.).

2.2. attēls. Submezotēlijā izvietoti vidēji daudz *HGF* pozitīvi fibroblasti 71 dienu vеча pacienta saaugumos. *HGF* IMH, X 250

Kontroles pacientu audos bija atrodamas vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ *FGF-2* pozitīvās struktūras.

FGF-2 atradne saaugumu pacientu grupā bija variabla – no retām (0/+) līdz pat ļoti daudz (++++ *FGF-2* pozitīvām struktūrām. Visbiežāk *FGF-2* pozitīvi bija fibroblasti un makrofāgi (sk. 2.3. att.), ļoti reti tika novēroti pozitīvi endotelioцитi vai mezotelioцитi. Salīdzinājumā ar kontroles grupu *FGF-2* pozitīvās struktūras saaugumu grupā bija **statistiski nozīmīgi mazāk** ($U = 83,00$; $p = 0,007$).

2.3. attēls. Vidēji daudz *FGF-2* pozitīvu fibroblastu un makrofāgu četras dienas vеча pacienta saaugumos. *FGF-2* IMH, X 400

Kontroles grupas audos visbiežāk *FGFR1* pozitīvo fibroblastu, endoteliocītu un mezoteliocītu bija maz (+).

Saaugumu audos *FGFR1* pozitīvie fibroblasti un makrofāgi kopumā bija vidēji daudz (++), atsevišķos paraugos pozitīvi bija arī endoteliocīti. **Saaugumu grupā *FGFR1* pozitīvās struktūras novēroja statistiski nozīmīgi vairāk** ($U = 81,00$; $p = 0,006$) (sk. 2.4. att.).

2.4. attēls. Daudz *FGFR1* pozitīvo fibroblastu un makrofāgu divas dienas veca pacienta saaugumos. *FGFR1 IMH*, X 400

2.2.2. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (*VEGF*)

VEGF kontroles grupas audos tika novērots maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) šūnās. Tika konstatēti *VEGF* pozitīvi endoteliocīti, mezoteliocīti, fibroblasti un makrofāgi.

Saaugumu audos kopumā bija vidēji daudz (++) *VEGF* pozitīvo struktūru. Pozitīvu reakciju uzrādīja **endoteliocīti un mezoteliocīti**, tomēr šo šūnu daudzums starp grupām **nebija statistiski atšķirīgs**. Savukārt *VEGF* pozitīvi **makrofāgi** (sk. 2.5. att.) pētījuma grupā tika novēroti **statistiski nozīmīgi vairāk** ($U = 61,00$; $p = 0,001$).

2.5. attēls. Vidēji daudz *VEGF* pozitīvo makrofāgu un fibroblastu 48 dienas veca pacienta saaugumos. *VEGF IMH*, X 250

2.2.3. Difūzās neiroendokrīnās sistēmas vispārējie marķieri

PGP 9.5 pozitīvas nervu šķiedras, izmainītas formas fibroblasti un mezoteliocīti kontroles grupas audos tika konstatēti vidēji daudz (++) vai vidēji daudz līdz daudz (++)/+++).

Saaugumu grupā *PGP 9.5* pozitīvās struktūras (pēc formas izmainīti fibroblasti, nervu šķiedras) visbiežāk tika novērotas maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) . Lielākā daļa *PGP 9.5* pozitīvo nervu šķiedru lokalizējās ap asinsvadiem (sk. 2.6. att.), dažas tika atrastas asinsvadu sienīņās. ***PGP 9.5* atradne saaugumu grupā bija statistiski nozīmīgi mazāka** ($U = 58,50$; $p = 0,001$).

2.6. attēls. Vidēji daudz **PGP 9.5** pozitīvo nervu šķiedru un izmainītas formas fibroblastu divas dienas veca pacienta saaugumos. **PGP 9.5 IMH, X 250**

Kontroles grupā iezīmējās maz (+) līdz vidēji daudz (++) perēķļveidīgu *CgA* pozitīvu izmainītas un neizmainītas formas fibroblastu un reti (0/+) pozitīvi endoteliocīti un mezoteliocīti.

Saaugumu grupas audos visbiežāk novēroja retus (0/+) vai maz (+) pozitīvus endoteliocītus, kā arī dažkārt makrofāgus. Jāatzīmē, ka vienā no gadījumiem tika konstatētas *CgA* pozitīvas epitelioidās šūnas. *CgA* pozitīvu fibroblastu daudzums variēja no retām līdz pat daudz šūnām (sk. 2.7. att.). Salīdzinājumā ar kontroles grupu **statistiski nozīmīga atšķirība netika konstatēta** ($U = 170,50$; $p = 0,491$).

2.7. attēls. Vidēji daudz **CgA** pozitīvu fibroblastu un makrofāgu 14 dienas veca pacienta saaugumos. **CgA IMH, X 250**

2.2.4. Audu iekaisuma citokīni

Kontroles pacientu audos konstatējām vidēji daudz (++) *IL-1α* saturošus fibroblastus un mezoteliocītus.

Saaugumu grupā kopumā tika konstatēti maz līdz vidēji daudz (+/++) *IL-1α* pozitīvi makrofāgi (sk. 2.8. att.) un fibroblasti (arī strukturāli izmainīti). Saaugumu grupā *IL-1α* pozitīvo struktūru **bija statistiski nozīmīgi mazāk** ($U = 98,50$; $p = 0,015$).

2.8. attēls. Maz *IL-1α* pozitīvo makrofāgu 14 dienas veca pacienta saaugumos. *IL-1α* IMH, X 250

Kontroles grupas audos tika novēroti vidēji daudz (++) vai vidēji daudz līdz daudz (++) *IL-4* pozitīvi fibroblasti un mezoteliocīti.

IL-4 pozitīvie fibroblasti un makrofāgi saaugumu grupā visbiežāk tika konstatēti maz (+) vai maz līdz vidēji daudz (+/++) (sk. 2.9. att.). Kopējā *IL-4* atradne saaugumu grupā bija **statistiski nozīmīgi mazāka** ($U = 60,50$; $p = 0,002$).

2.9. attēls. Maz līdz vidēji daudz vāji iekrāsotu *IL-4* pozitīvo fibroblastu un makrofāgu 30 dienas veca pacienta saaugumos. *IL-4 IMH*, X 400

Kontroles grupā visbiežāk tika novēroti vidēji daudz līdz daudz (++/+++) *IL-6* pozitīvi fibroblasti un mezoteliocīti.

Saaugumos *IL-6* klātbūtni novēroja iekaisuma šūnās (neitrofilos leukocītos, makrofāgos) un fibroblastos, ieskaitot izmainītos fibroblastos. Atsevišķos audu paraugos tika konstatētas *IL-6* pozitīvas epitelioidās šūnas (sk. 2.10. att.). Kopumā *IL-6* pozitīvo struktūru bija vidēji daudz (++), kas **statistiski nozīmīgi neatšķīrās** no kontroles grupas ($U = 146,50$; $p = 0,243$).

2.10. attēls. Daudz *IL-6* pozitīvo makrofāgu un epitelioido šūnu divas dienas veca pacienta saaugumos. *IL-6 IMH*, X 250

IL-7 pozitīvie fibroblasti un makrofāgi kontroles grupā bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++). Pozitīvu reakciju novērojām arī mezotēlijā un endotēlijā.

IL-7 klātbūtne saaugumu audos tika novērota fibroblastos, makrofāgos, endoteliocītos (sk. 2.11. att.) un epitelioidajās šūnās. Visbiežāk tika novērots daudz (+++), vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai vidēji daudz (++) *IL-7* pozitīvo struktūru. *IL-7* atradne saaugumu grupā **statistiski nozīmīgi neatšķīrās** no kontroles grupas ($U = 144,50$; $p = 0,190$).

2.11. attēls. Vidēji daudz *IL-7* pozitīvo endoteliocītu, vāji iekrāsotu fibroblastu un makrofāgu 19 dienas veca pacienta saaugumos. *IL-7* IMH, X 250

Kontroles grupā vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ mezoteliocīti un fibroblasti saturēja *IL-8*.

IL-8 klātbūtne saaugumu grupas pacientu audos bija variabla. Visbiežāk maz (+) fibroblasti un makrofāgi saturēja *IL-8*, tomēr tika novēroti gadījumi, kuros pozitīvo struktūru bija maz līdz vidēji daudz (+/+), vidēji daudz (++) (sk. 2.12. att.) vai pat vidēji daudz līdz daudz (++)/+++). Kopumā saaugumu grupā *IL-8* pozitīvo struktūru, salīdzinot ar kontroles grupu, bija **statistiski nozīmīgi mazāk** ($U = 40,00$; $p < 0,001$).

2.12. attēls. Vidēji daudz vāji iekrāsotu *IL-8* pozitīvo fibroblastu un makrofāgu 56 dienas veca pacienta saaugumos. *IL-8 IMH*, X 250

IL-10 kontroles grupas audos tika atrasts vidēji daudz (++) vai vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ struktūrās. Visbiežāk pozitīvi bija mezoteliocīti, kā arī makrofāgi un fibroblasti.

IL-10 saaugumu grupas audos tika konstatēts makrofāgos, epitelioidajās šūnās, neitrofilajos leukocītos un fibroblastos (sk. 2.13. att.). Kopumā novērojām vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ *IL-10* pozitīvās struktūras un šādu pacientu arī bija visvairāk. **Statistiski nozīmīga atšķirība** starp grupām **netika konstatēta** ($U = 184,00$; $p = 0,769$).

2.13. attēls. Vidēji daudz *IL-10* pozitīvu fibroblastu un makrofāgu nepilnu dienu veca pacienta saaugumos. *IL-10 IMH*, X 400

TNF α klātbūtne tika novērota visu kontroles grupas pacientu audos. Kopumā bija vērojami vidēji daudz (++) pozitīvi makrofāgi un fibroblasti.

TNF α saturošo šūnu klātbūtne saaugumu grupā bija pārliecinoša – visbiežāk jeb 27 gadījumos tika novērotas vidēji daudz (++) *TNF α* pozitīvās struktūras. *TNF α* saturēja fibroblasti un makrofāgi (sk. 2.14. att.). Astoņos gadījumos konstatējām izteikti pozitīvas epitelioidās šūnas. Starp saaugumu un kontroles grupas pozitīvajām struktūrām **netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība** ($U = 124,00$; $p = 0,082$).

2.14. attēls. Vidēji daudz *TNF α* pozitīvo fibroblastu un makrofāgu 56 dienas veca pacienta saaugumos. *TNF α* IMH, X 250

2.2.5. Cilvēka beta defensīns-2 (*HBD-2*)

Kontroles grupā kopumā tika konstatēti vidēji daudz (++) vai vidēji daudz līdz daudz (++)/++++) *HBD-2* saturoši fibroblasti un makrofāgi. Tomēr jāatzīmē, ka mezoteliocīti bija maz līdz vidēji daudz (+/++).

HBD-2 saaugumu audos galvenokārt tika novērots fibroblastos un makrofāgos (sk. 2.15. att.) un šo šūnu daudzums **statistiski nozīmīgi neatšķīrās** no kontroles grupas. Savukārt *HBD-2* saturošus mezoteliocītus kopumā konstatējām maz (+) un 17 audu paraugos tie netika konstatēti. **Mezoteliocīti**

saaugumu gadījumā tika novēroti **statistiski nozīmīgi mazāk** ($U = 50,00$; $p < 0,001$).

2.15. attēls. Vidēji daudz *HBD-2* pozitīvo fibroblastu, makrofāgu un mezoteliocītu 151 dienu veca pacienta saaugumos. *HBD-2 IMH*, X 250

2.2.6. Audu deģenerācijas enzīmi un to inhibitori

MMP-2 atradne kontroles grupas audos variēja no maz (+) līdz vidēji daudz (++) pozitīvām struktūrām. *MMP-2* tika novērota visiem kontroles pacientiem gan fibroblastos, gan makrofāgos, gan arī endoteliocītos un mezoteliocītos.

Saaugumu grupas audos kopumā tika novērotas maz līdz vidēji daudz (+/++) *MMP-2* pozitīvas iekaisuma šūnas, galvenokārt, makrofāgi un neitrofilie leukocīti, epitelioidās šūnas (sk. 2.16. att.), fibroblasti un endoteliocīti. **Statistiski nozīmīga atšķirība** starp grupām **netika konstatēta** ($U = 174,00$; $p = 0,654$).

2.16. attēls. Daudz *MMP-2* pozitīvo makrofāgu un epitelioido šūnu divas dienas veca pacienta saaugumos. *MMP-2* *IMH*, X 250

TIMP-2 klātbūtne kontroles grupas pacientu audos tika novērota fibroblastos, makrofāgos un visizteiktāk mezoteliocītos un endoteliocītos. Kopumā tika konstatētas vāji iezīmētas vidēji daudz (++) *TIMP-2* pozitīvās šūnas.

TIMP-2 atradne saaugumu audos variēja no maz (+) līdz pat vidēji daudz līdz daudz (++) pozitīvām struktūrām. Tika novēroti *TIMP-2* pozitīvi fibroblasti un iekaisuma šūnas, galvenokārt, makrofāgi (sk. 2.17. att.). *TIMP-2* pozitīvās šūnas saaugumu audos bija **statistiski nozīmīgi mazākā daudzumā**. Visizteiktākās atšķirības tika konstatētas *TIMP-2* pozitīvu fibroblastu ($U = 108,00$; $p = 0,022$) un endoteliocītu ($U = 34,0$; $p < 0,001$) gadījumā.

2.17. attēls. Vidēji daudz *TIMP-2* pozitīvo fibroblastu, makrofāgu un endoteliocītu 56 dienas veca pacienta saaugumos. *TIMP-2 IMH*, X 250

2.3. Imūnhistoķīmiski noteikto marķieru savstarpējo korelāciju izvērtēšanas dati

Statistiski nozīmīgu ciešu, pozitīvu korelāciju konstatējām starp *HBD-2* un *MMP-2* atradni ($r_s = 0,728$; $p < 0,001$).

Statistiski nozīmīgas vidēji ciešas, pozitīvas korelācijas konstatējām starp pacientu vecumu un *CgA* ($r_s = 0,549$; $p < 0,001$), pacientu vecumu un *FGF-2* ($r_s = 0,354$; $p = 0,011$), kā arī starp imūnhistoķīmiski noteikto faktoru atradni dažādās kombinācijās (sk. 2.1. tab.).

2.1. tabula

Imūnhistoķīmiski noteikto marķieru statistiski nozīmīgas vidēji ciešas, pozitīvas korelācijas saaugumu audos

Marķieris 1	Marķieris 2	r_s	p-vērtība
<i>HBD-2</i>	<i>VEGF</i>	0,625	< 0,001
<i>HBD-2</i>	<i>IL-6</i>	0,614	< 0,001
<i>HBD-2</i>	<i>TIMP-2</i>	0,601	< 0,001
<i>HBD-2</i>	<i>TNFα</i>	0,596	< 0,001
<i>TIMP-2</i>	<i>VEGF</i>	0,593	< 0,001
<i>TNFα</i>	<i>TIMP-2</i>	0,588	< 0,001
<i>IL-6</i>	<i>TIMP-2</i>	0,583	< 0,001
<i>IL-10</i>	<i>IL-8</i>	0,550	< 0,001
<i>IL-10</i>	<i>VEGF</i>	0,548	< 0,001

2.1. tabulas turpinājums

Markieris 1	Markieris 2	r_s	p-vērtība
<i>HGF</i>	<i>IL-6</i>	0,542	< 0,001
<i>HBD-2</i>	<i>IL-10</i>	0,532	< 0,001
<i>IL-6</i>	<i>VEGF</i>	0,528	< 0,001
<i>PGP 9.5</i>	<i>TIMP-2</i>	0,524	< 0,001
<i>PGP 9.5</i>	<i>MMP-2</i>	0,515	< 0,001
<i>VEGF</i>	<i>MMP-2</i>	0,511	< 0,001
<i>IL-7</i>	<i>IL-4</i>	0,491	< 0,001
<i>IL-4</i>	<i>MMP-2</i>	0,490	< 0,001
<i>FGF-2</i>	<i>FGFR1</i>	0,490	< 0,001
<i>MMP-2</i>	<i>TIMP-2</i>	0,489	< 0,001
<i>IL-4</i>	<i>FGF-2</i>	0,481	< 0,001
<i>HGF</i>	<i>TIMP-2</i>	0,474	= 0,001
<i>IL-1</i>	<i>IL-7</i>	0,471	= 0,001
<i>IL-10</i>	<i>TIMP-2</i>	0,463	= 0,001
<i>HGF</i>	<i>TNFα</i>	0,460	= 0,001
<i>HBD-2</i>	<i>PGP 9.5</i>	0,453	= 0,001
<i>HBD-2</i>	<i>HGF</i>	0,443	= 0,002
<i>IL-7</i>	<i>IL-8</i>	0,440	= 0,001
<i>IL-1</i>	<i>IL-10</i>	0,438	= 0,002
<i>TNFα</i>	<i>IL-6</i>	0,437	= 0,003
<i>IL-6</i>	<i>PGP 9.5</i>	0,436	= 0,002
<i>IL-10</i>	<i>IL-7</i>	0,433	= 0,002
<i>HGF</i>	<i>PGP 9.5</i>	0,431	= 0,002
<i>IL-7</i>	<i>MMP-2</i>	0,431	= 0,002
<i>TNFα</i>	<i>PGP 9.5</i>	0,429	= 0,003
<i>HGF</i>	<i>IL-8</i>	0,423	= 0,003
<i>IL-8</i>	<i>VEGF</i>	0,415	= 0,003
<i>HGF</i>	<i>IL-10</i>	0,414	= 0,004
<i>IL-1</i>	<i>TIMP-2</i>	0,412	= 0,004
<i>IL-6</i>	<i>MMP-2</i>	0,401	= 0,005
<i>IL-10</i>	<i>IL-4</i>	0,398	= 0,005
<i>FGFR1</i>	<i>IL-7</i>	0,396	= 0,004
<i>TNFα</i>	<i>VEGF</i>	0,396	= 0,006
<i>IL-7</i>	<i>FGF-2</i>	0,394	= 0,005
<i>IL-6</i>	<i>IL-8</i>	0,381	= 0,007
<i>TNFα</i>	<i>IL-8</i>	0,376	= 0,010
<i>IL-10</i>	<i>MMP-2</i>	0,375	= 0,009
<i>IL-8</i>	<i>TIMP-2</i>	0,374	= 0,009
<i>FGFR1</i>	<i>IL-1</i>	0,369	= 0,008
<i>IL-1</i>	<i>IL-4</i>	0,365	= 0,010
<i>VEGF</i>	<i>PGP 9.5</i>	0,365	= 0,011
<i>IL-10</i>	<i>IL-6</i>	0,362	= 0,011

2.1. tabulas nobeigums

Marķieris 1	Marķieris 2	r_s	p-vērtība
<i>IL-8</i>	<i>PGP 9.5</i>	0,361	= 0,012
<i>HGF</i>	<i>MMP-2</i>	0,351	= 0,014
<i>IL-8</i>	<i>MMP-2</i>	0,351	= 0,014

Apzīmējums: r_s – Spīrmena korelācijas koeficients

Statistiski nozīmīga vidēji cieša, negatīva korelācija tika konstatēta starp *VEGF* un *TGFβ* atradni ($r_s = -0,401$; $p = 0,005$) un *PGP 9.5* un *TGFβ* atradni ($r_s = -0,386$; $p = 0,007$).

3. DISKUSIJA

Pasaulē plaši tiek pētīti postoperatīvie saaugumi pieaugušo pacientu populācijā, kā arī tiek veikti eksperimenti ar dzīvniekiem laboratorijas apstākļos. Tomēr nav daudz pētījumu par saaugumu veidošanās un attīstības mehānismiem bērniem, it īpaši jaundzimušajiem. Ir maz arī dažādu audu faktoru imūnhistoķīmisku pētījumu par operāciju laikā iegūtu zīdaiņu un bērnu saaugumu audu morfoloģiju.

Saaugumu patoģenēze nav līdz galam skaidra, tomēr zināms, ka tajā iesaistīts mezotēlija bojājums ar tam sekojošu fibrīna matricēs veidošanās un fibrinolīzes disbalansu, kā arī iekaisuma un pretiekaisuma faktoru aktivāciju. Mūsu pētījumā tika izvērtēti *TGFβ*, *HGF*, *FGF-2*, *FGFR1*, *VEGF*, *PGP 9.5*, *CgA*, *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-7*, *IL-8*, *IL-10*, *TNF-α*, *HBD-2*, *MMP-2* un *TIMP-2* imūnreaktīvo struktūru relatīvais daudzums intraabdominālu saaugumu audu paraugos bērniem līdz gada vecumam, salīdzinot tos ar relatīvi veselās vēderplēves kontroles paraugiem. Jāuzsver, ka šī pētījuma materiāls ir unikāls un tādai grupai veikts pirmo reizi, tādēļ rezultātus varam salīdzināt tikai ar tiem literatūras datiem, kas lielākoties iegūti postoperatīvo saaugumu pētījumos vai pētījumos ar eksperimenta dzīvniekiem.

Veicot pārskata paraugu analīzi, pacientiem ar saaugumiem vizualizējām apaļas formas mezoteliocītus. Šūnu formas maiņa no plakanas uz apaļu varētu liecināt par mezotēlija reakciju, kuras rezultātā attīstās disbalanss starp fibrīna veidošanos un fibrinolīzi, tādējādi radot labvēlīgus apstākļus saaugumu attīstībai. Jādomā, ka šūnu formas maiņa nav specifiska saaugumu audiem, bet norāda uz šūnu paaugstināto metabolo aktivitāti, ko apstiprina citu autoru pētījumi, kuros veikta mezoteliocītu ultrastrukturāla analīze. Apaļas, kubiskas vai bruģakmeņa formas mezoteliocītiem ir raksturīgs lielāks šūnas tilpums, izteikti liels mitohondriju daudzums, plašs graudainā endoplasmatiskā tīkla izvietojums un

labi attīstīts Goldži komplekss, kas norāda uz izteikto metabolo aktivitāti (Nagai et al., 2013).

Mūsu pētījuma saaugumu saistaudos bija raksturīgi arī modificētas formas fibroblasti, kas visdrīzāk norāda uz šūnu funkcionālās aktivitātes pārmaiņām. To netieši apstiprina palielinātais kolagēno šķiedru kūlīšu daudzums saaugumu rajonos. Iespējams, fibroblasti veikuši fenotipa maiņu (iespējams, uz miofibroblastiem), jo tiem raksturīga pastiprināta ekstracelulārās matricēs šķiedru veidošana, tādējādi veicinot saaugumu veidošanos. Par to liecina arī saaugumu audos palielinātais *TGFβ* pozitīvo šūnu daudzums, kas ir viens no būtiskākajiem faktoriem miofibroblastu aktivācijā (Bianchi et al., 2016). Itāļu pētnieks *Angelo Corti* aprakstījis *CgA* modificētu fibroblastu aktivitāti ar ekstracelulārās matricēs proteīnu sintēzes veicināšanu un stromas audu veidošanu (Corti, 2004). Vēlāk citu autoru pētījumos audu bojājuma gadījumā aprakstīta fibroblastu diferenciācija par miofibroblastiem, kuriem raksturīga ekstracelulārās matricēs proteīnu, kā arī ekstracelulāro matrici reorganizējošu faktoru (*MMPs*, *TIMPs*) sintēze (Ravikanth et al., 2011; Darby et al., 2014). Miofibroblasti novēroti dažādu ar fibrozi saistītu slimību gadījumos (Bochaton-Piallat et al., 2016).

Mūsu pētījumā saaugumu rajonos novērojām blīvus, dažādos virzienos novietotus saistaudu šķiedru kūlīšus, kā arī dažkārt lielus kolagēno šķiedru sakopojumus bez fibroblastiem. Ņemot vērā saaugumu patoģenēzē iesaistītos mehānismus, šī atradne ir tipiska saaugumu audiem un var liecināt par fibrozi. Jādomā, ka saaugumu veidošanās sākumā vērojams lielāks saistaudu šūnu daudzums, kas pakāpeniski mazinās, vienlaicīgi pieaug saistaudu šķiedru daudzums, veidojot lielus sakopojumus ar minimālu šūnu klātbūtni. To apstiprina arī citu autoru radītās klasifikācijas sistēmas, kurās 1. pakāpes (nenobrieduši) saaugumi tiek raksturoti ar nelielu saistaudu šķiedru daudzumu, smalkām retikulārajām šķiedrām un bagātīgu saistaudu šūnu klātbūtni, savukārt

4. pakāpes (nobrieduši) saaugumiem raksturīgas blīvas saistaudu šķiedras un minimāls šūnu daudzums (Montalvo-Javé et al., 2016). Citi autori atzīmē, ka saaugumu veidošanās sākumā audos raksturīgs neliels iekaisuma šūnu daudzums, kas pakāpeniski pieaug līdz ar asinsvadu proliferāciju, savukārt nobriedušos saaugumos var būt novērojami arī deģeneratīvi fibrozi audi (Zhang S. et al., 2009).

Gandrīz visos mūsu pētījuma saaugumu audos konstatējām neitrofilo leukocītu un makrofāgu infiltrāciju, kas apstiprina iekaisuma iesaisti saaugumu morfopatoģenēzē. Šī atradne atbilst citu autoru darbiem, kuros pētīti postoperatīvie saaugumi. Vēderplēves bojājuma rezultātā radies iekaisums sekmē biezas fibrīna matricas veidošanos, kas ir pamats saaugumu attīstībai (Wei et al., 2016). Iekaisuma šūnas spēj producēt iekaisuma/pretiekauma citokīnus un augšanas faktorus, kas sekmē saistaudu veidošanos un vaskularizāciju (Binnebösel et al., 2008). Mūsu pētījumā bieži novērojām pilnasinīgus asinsvadus un neoangiogēnēzi, kas veicina audu remodelāciju. To netieši parāda arī palielinātā *VEGF* atradne un šī augšanas faktora pozitīvās korelācijas ar iekaisuma citokīniem un *MMP-2*.

Mūsu pētījumā daļai pacientu iekaisuma šūnas bija izvietotas perivaskulāri, bet daļai – difūzi. Kā novatoru atradni varam minēt epitelioido šūnu klātbūtni saaugumu audos, kuru novērojām izteikta difūza iekaisuma gadījumā. Jādomā, ka epitelioidās šūnas norāda uz granulomu veidošanos un apstiprina hronisku, ilgstoši noritošu iekaisuma procesu. Citi autori norāda, ka šīs šūnas liecina par intensīvu imūno atbildi, kā arī veicina fibrozes attīstību, sintezējot fibroblastus aktivējošus faktorus (Turk & Narayanan, 1982; Turner et al., 2014).

TGFβ ir līdz šim visvairāk pētītais augšanas faktors saaugumu patoģenēzē. Mūsu pētījumā novērojām vidēji daudz *TGFβ* pozitīvo struktūru lielākajā daļā saaugumu audu paraugu, turklāt *TGFβ* pozitīvās struktūras

pētījuma grupā bija statistiski nozīmīgi vairāk nekā kontroles grupā. Tas liecina par saaugumu veidojošo struktūru nemītīgu augšanas stimulāciju, ko pamato mūsu lielo kolagēno šķiedru kūlīšu un saaugumu rajonu atradne. Kopumā uzskatām, ka *TGFβ* palielināts struktūru daudzums ir neatņemama saaugumu veidošanās patoģenēzes sastāvdaļa un šos datus netieši pamato citu autoru atradne. Zināms, ka šis faktors regulē ekstracelulārās matricē veidošanos un remodelāciju, veicina fibrozes attīstību (Verrecchia & Mauviel, 2007). *TGFβ* darbību raksturo palielināta ekstracelulārās matricē komponentu sintēze, kā arī mezenhimālas izcelsmes šūnu proliferācija, migrācija un akumulācija (Pohlers et al., 2009). Palielinātu *TGFβ* ekspresiju saista ar fibrozi dažādos audos un orgānos, ieskaitot peritoneālo saaugumu veidošanos (Ghellai et al., 2000). Pārlietu liels *TGFβ* daudzums korelē ar palielinātu saistaudu uzkrāšanos (Verrecchia & Mauviel, 2007).

Starp *TGFβ* un *VEGF* novērojām statistiski nozīmīgu vidēji ciešu negatīvu korelāciju, kas norāda uz *VEGF* nomākumu *TGFβ* ietekmē intraabdominālu saaugumu audos un varētu būt kā kompensators mehānisms intraabdominālu saaugumu morfoģenēzē. Mūsu pētījuma atradne saskan arī ar citu autoru datiem par *TGFβ* un *VEGF* mijiedarbības iesaisti peritoneāla bojājuma un fibrozes attīstībā (Kariya et al., 2018). *TGFβ* nosaka *VEGF* struktūras proteīnu stabilitāti un nomāc tā ekspresiju, tādējādi regulējot angiogēzi (Geng et al., 2013).

Negatīvu korelāciju novērojām arī starp *TGFβ* un *MMP-2* atradni, kas saskan ar iepriekš literatūrā aprakstīto. *TGFβ* nomāc matricē metaloproteināžu aktivitāti, tādējādi papildus ekstracelulārās matricē komponentu sintēzei tiek kavēta arī tās degradācija (Leask & Abraham, 2004).

Savukārt vāju pozitīvu korelāciju mūsu pētījumā novērojām starp *TGFβ* un *HBD-2* atradni, kas norāda uz iekaisuma un/vai infekcijas klātbūtni saaugumu veidošanās procesā. *TGFβ* un iekaisuma mediatori, piemēram, *IL-1* un *TNFα*,

veicina *HBD-2* izdali, tādējādi nodrošinot antimikrobiālo aizsardzību un veicinot brūču dzīšanu (Tang et al., 2017).

Mūsu pētījumā atklājām vien retas *HGF* pozitīvās struktūras. Jāatzīmē, ka kopumā nekonstatējām statistiski nozīmīgas atšķirības no kontroles grupas, tomēr kontroles audos bija statistiski nozīmīgi vairāk *HGF* pozitīvo mezoteliocītu. Jādomā, ka šī faktora trūkums saaugumu audos veicina saaugumu veidošanos un attīstību, jo *TGFβ* produkciju miofibroblastos nomāc *HGF*, kas ne tikai ierobežo šī faktora veidošanos, bet arī tā darbību un tādējādi kavē peritoneālas fibrozes attīstību (Gallo et al., 2015). *HGF* ne tikai nomāc *TGFβ*, bet arī citu fibrozi veicinošu faktoru darbību, piemēram, trombocītu atvasināto augšanas faktoru, saistaudu augšanas faktoru, interferonu- γ (*IFN-γ*) (Kosaka et al., 2008; Nakamura & Mizuno, 2010; Ohashi et al., 2014).

Mūsu pētījumā saistību starp *HGF* un *TGFβ* nekonstatējām, tomēr statistiski nozīmīga korelācija tika novērota gan starp *HGF* un *TIMP-2*, gan arī *HGF* un *MMP-2*. Jādomā, ka *HGF* varētu būt iesaistīts ekstracelulārās matricē remodelācijas regulācijā, tomēr tas nenosaka savstarpējo *MMP-2* un *TIMP-2* līmeni. Literatūrā aprakstīts, ka *HGF* ietekmē nozīmīgi pieaug *MMP-2* ekspresija (Esposito, Parrilla, De Mauri et al., 2005). Interesanti, ka aktīvi proliferējošās šūnās *HGF* darbojas nevis fibrozi nomācoši, bet tieši pretēji – *HGF* ietekmē pieaug *TGFβ* un *TIMP-2*, kas aktivē miofibroblastus, veicina ekstracelulārās matricē molekulu uzkrāšanos un fibrozi (Esposito, Parrilla, Cornacchia et al., 2009).

Mūsu pētījumā *HGF* pozitīvi korelēja arī ar *VEGF* atradni, kas, jādomā, ir saistāms ar pastiprinātu asinsvadu remodelāciju saaugumu veidošanās procesā. To pamato fakts, ka *HGF* piemīt angiogēna aktivitāte, turklāt šis faktors var darboties kombinācijā ar *VEGF*, tādējādi veicinot neovaskularizāciju un mazinot lokāli radušos hipoksiju (Sulpice et al., 2009).

Novērotā vidēji ciešā sakarība starp *HGF* un *TNF α* , *IL-6*, *IL-8*, *IL-10* norāda uz *HGF* iesaisti iekaisuma un pretiekaisuma faktoru regulācijā. Iekaisuma gadījumā *TNF α* inducē *HGF* sekrēciju fibroblastos (Bigatto et al., 2015). Arī *IL-6* signālceļi veicina *HGF* produkciju, kas savukārt tālāk nodrošina pretiekaisuma citokīna *IL-10* pastiprinātu veidošanos, tādējādi ierobežojot iekaisumu. *HGF* uzskatāms par spēcīgu pretiekaisuma faktoru (Coudriet et al., 2010), jo, piemēram, monocīti *HGF* ietekmē producē ievērojami augstāku *IL-10* daudzumu (Chen P. et al., 2014).

Gandrīz pusē no saaugumu grupas paraugiem konstatējām vismaz vidēji daudz *FGF-2* pozitīvo struktūru, kas norāda uz tā iespējamu, netiešu iesaisti šīs saslimšanas morfoloģijā. To apstiprina arī citi autori, norādot, ka *FGF-2* daudzums pieaug iekaisuma skartos audos, jo iekaisuma citokīni ierosina *FGF-2* sintēzi un atbrīvošanu (Zittermann & Issekutz, 2006). Mēs papildus norādam uz plašāku faktora lomu, ko apstiprina mūsu novērotās korelācijas starp *FGF-2*, tā receptoru *FGFR1* un iekaisuma mediatoriem, piemēram, *IL-4*, *IL-7*, *IL-8* un *IL-10*. Tādējādi apstiprinām, ka intraabdominālu saaugumu patoģenēze, iespējams, saistīta ar izmaiņām *FGF-2/FGFR1* signālceļā, kas var radīt labvēlīgus apstākļus iekaisuma attīstībai, vaskularizācijas traucējumiem, kā arī audu augšanas un remodelācijas traucējumiem. Mēs konstatējām statistiski nozīmīgu vidēji ciešu korelāciju starp pacienta vecumu un *FGF-2*, kas norāda uz pieaugošu faktora ietekmi uz saaugumu audiem. Mūsu atradne atklāj faktoru dažādās saaugumu šūnās, kas paplašina izpratni par *FGF-2* funkcijām, jo ir zināms, ka *FGF-2* ierosina ar iekaisumu saistītu gēnu, ieskaitot iekaisuma citokīnu un to receptoru, ekspresiju endoteliocītos (Presta et al., 2009).

FGF-2 veicina brūču dzīšanu un mazina rētu veidošanos, inhibējot miofibroblastu diferenciāciju (Wang P. et al., 2017). Papildus aktivētu miofibroblastu nomākšanai *FGF-2* nomāc arī miofibroblastu priekštečus un saistaudu fibroblastus (Dolivo et al., 2017). Zinātniskajā literatūrā aprakstīts

FGF-2 fibrozi nomācošs efekts aknās, plaušās, asinsvados, acīs, un konstatēts, ka efekta radīšanā iesaistīta arī *TGFβ* signālu inhibīcija (Koo et al., 2018). Interesanti, ka trešdaļā no mūsu analizētajiem saaugumu audu paraugiem *FGF-2* pozitīvo struktūru bija maz, tās bija retas vai pat netika novērotas. Tas, mūsaprāt, liecina, ka saaugumu grupā *FGF-2* pozitīvo šūnu statistiski nozīmīgais mazākais skaits ir iemesls tam, ka attīstās fibroze.

FGF-2 piemīt augsta spēja saistīties ar *FGFR1* (Itoh & Ornitz, 2004). Līdz šim nav pētījumu, kuros būtu aprakstīta *FGFR1* atradne saaugumu audos. Novērojām statistiski nozīmīgu pozitīvu korelāciju starp *FGF-2* un *FGFR1* atradni, tomēr jāatzīmē, ka *FGFR1* pozitīvo struktūru pētījuma grupā bija statistiski nozīmīgi vairāk. Tādējādi, domājams, saistība starp mazāk izteikto *FGF-2* atradni un vairāk izteikto *FGFR1* atradni pierāda kompensatoru receptoru stimulāciju kā atbildi uz šī paša faktora trūkumu saaugumu gadījumā. Šī atradne vērtējama kā jauna un būtiska, jo saistīta ar sekojošu saistaudu galveno šūnu, fibroblastu, tiešu stimulāciju.

Augsta *FGFR1* ekspresija veselos audos ir raksturīga endoteliocītiem (Sun H. et al., 2017), tomēr tieši šajās šūnās mēs novērojām statistiski nozīmīgi mazāku *FGFR1* atradni salīdzinājumā ar kontroles grupu, tādēļ pieņemam, ka šīs šūnas saaugumu audos nereaģē adekvāti un traucējumi *FGFR1* signālceļā ierosina endoteliocītu apoptozi (Sun H. et al., 2017).

Literatūrā aprakstīts, ka vēderplēves asinsvadu endoteliocīti un mezoteliocīti producē *VEGF* (Basbug et al., 2011). Šādu atradni novērojām saaugumu audos, tomēr nekonstatējām statistiski nozīmīgu atšķirību salīdzinājumā ar kontroles grupu, kas liecina par abu šo šūnu producēto faktoru nebūtisku nozīmi saaugumu morfoģenēzē.

Tomēr interesanti, ka ir atrodami pretrunīgi dati par *VEGF* lomu audos. Vienā pētījumā aprakstīts, ka *VEGF* var pat mazināt saaugumu veidošanos, stimulējot fibrinolīzi un plazminogēna aktivatora aktivitāti, kā arī nomācot *TGFβ*

un tā fibrozi veicinošos efektus (Barcz et al., 2012). Ar šo sakarību varētu būt skaidrojama negatīvā korelācija, ko novērojām starp *VEGF* un *TGF-β*, un kas varētu būt kā kompensators mehānisms saaugumu veidošanās procesā. Mēs atradām izteiktu neoangioģenēzi un domājam, ka *VEGF* varētu būt netieši iesaistīts asinsvadu pārmaiņās. To apstiprina fakts, ka *VEGF* ir galvenais angioģenēzes mediators, kas regulē asinsvadu remodelāciju audu bojājuma un iekaisuma gadījumā (Wu et al., 2010).

Ir dati, kuros *VEGF* pieaugums saaugumu audos aprakstīts kā centrālais faktors saaugumu attīstībā (Bi et al., 2017). *VEGF* pieaugums tiek raksturots kā kompensējošs mehānisms, kas regulē angioģenēzi, nodrošinot bojātiem audiem barības vielas un skābekli (Rout et al., 2000). Analizējot *VEGF* atradni dažādās šūnās, saaugumu grupā konstatējām statistiski nozīmīgi vairāk *VEGF* pozitīvu makrofāgu. Ņemot vērā šo atradni un kopumā novēroto *VEGF* pozitīvo šūnu daudzumu, jādomā par hipoksijas lomu intraabdominālu saaugumu attīstībā. Zināms, ka *VEGF* veidošanās makrofāgos ir palielināta skābekļa trūkuma apstākļos (Harmey et al., 1998). Hipoksijas un iekaisuma gadījumā *IL-10* stimulācija uztur paaugstinātu *VEGF* līmeni makrofāgos (Wu et al., 2010). Novērotā pozitīvā korelācija starp *IL-10* un *VEGF* apstiprina šo saistību.

Mūsu pētījumā novērojām statistiski nozīmīgu pozitīvu korelāciju starp *VEGF* un *HBD-2* atradni. Izrādās, *HBD-2* var palielināt *VEGF* izdali un līdzīgi *VEGF* veicināt endoteliocītu migrāciju, proliferāciju un kapilāru veidošanos iekaisuma gadījumā (Baroni et al., 2009). *HBD-2* veicina iekaisuma citokīnu, piemēram, *IL-6*, *IL-8*, *TNFα*, pieaugumu, kas tālāk rada fibrozi veicinošu faktoru, tajā skaitā *VEGF*, izdali (Tiriveedhi et al., 2014). Tādējādi varam domāt, ka novērotās korelācijas starp iekaisuma citokīniem (*IL-6*, *IL-8*, *TNFα*) un *VEGF* ir nozīmīga saaugumu morfoģenēzes sastāvdaļa. Jādomā, ka šī atradne, kas liecina par pastiprinātu kolagēna veidošanos iekaisušos audos un angioģenēzes modulāciju visu saaugumu šūnu izdalītā *VEGF* ietekmē, ir ļoti būtiska.

Intraabdominālu saaugumu inervācija ir maz pētīta, un *PGP 9.5* loma intraabdominālu saaugumu gadījumā ir neskaidra. Mūsu rezultāti dažos gadījumos parādīja vidēji daudz līdz daudz *PGP 9.5* pozitīvu nervu šķiedru, tomēr kopumā novērojām maz līdz vidēji daudz *PGP 9.5* pozitīvo struktūru. *PGP 9.5* nepieciešams aksonu stabilitātes nodrošināšanai, un tā zudums veicina aksonu deģenerāciju un neironu bojāeju (Bishop et al., 2016; Guglielmotto et al., 2017). *PGP 9.5* samazināšanās ir raksturīga atradne išēmiska bojājuma gadījumā (Guglielmotto et al., 2017). Tādēļ nevar izslēgt *PGP 9.5* samazināšanos intraabdominālu saaugumu audos hipoksijas dēļ. Papildus jāņem vērā, ka *PGP 9.5* samazināšanās sekmē olbaltumvielu uzkrāšanos, kas veicina ar iekaisumu saistītu deģeneratīvu procesu attīstību (Lima et al., 2012).

PGP 9.5 dominē smadzenēs un tur veido līdz pat 5% no visiem neironālajiem proteīniem. Turklāt mazākos daudzumos tas konstatēts gonādu šūnās un noteiktos apstākļos arī citās šūnās, piemēram, fibroblastos brūču dzīšanas laikā (Bishop et al., 2016). Zinātniskajā literatūrā aprakstīta bagātīga *PGP 9.5* ekspresija cilvēka miofibroblastos, kas sekmē fibrotiskos procesus. *PGP 9.5* pozitīvas, fibroblastiem līdzīgas šūnas novērotas fibrozes skartos aknu audos (Wilson et al., 2015). Mūsu dati parāda, ka arī fibroblasti un makrofāgi sekretē *PGP 9.5* un ka statistiski nozīmīgas saistības veidojas starp *PGP 9.5* un fibrozi veicinošo *TGFβ*, kā arī saistaudu matricas remodelāciju regulējošajiem faktoriem – *MMP-2* un *TIMP-2*. Šī atradne literatūrā par saaugumiem līdz šim nav aprakstīta un vērtējama kā jauna un novatora.

PGP 9.5 veidošanos veicina tādi iekaisuma citokīni kā *IFN-γ* un *TNFα* (Ichikawa et al., 2010; Gu et al., 2018), savukārt *PGP 9.5* pieaugums veicina *TNFα* regulētu iekaisumu (Guglielmotto et al., 2017). Pozitīvā vidēji ciešā saistība starp *TNFα* un *PGP 9.5* norāda, ka *TNFα* varētu veicināt nervu šķiedru veidošanos intraabdominālos saaugumos un *PGP 9.5* ir būtisks faktors iekaisuma uzturēšanā. Kā unikālus datus varam prezentēt *PGP 9.5* vidēji ciešās korelācijas

ar *IL-6* un *IL-8* un vājās korelācijas ar *IL-4* un *IL-7*, kas liecina par *PGP 9.5* iesaisti iekaisuma regulācijā intraabdominālu saaugumu gadījumā.

Gan cilvēka endoteliocīti, gan gludie miocīti asinsvadu sienīņās producē *PGP 9.5*, tādēļ pastāv viedoklis, ka *PGP 9.5* daļēji iesaistīts arī asinsvadu remodelācijā (Guglielmotto et al., 2017). Tādējādi, iespējams, skaidrojamas vidēji ciešās korelācijas starp *PGP 9.5* un asinsvadu remodelācijā iesaistītajiem faktoriem – *VEGF* un *HGF*.

Eksperimentos ar pelēm konstatēts, ka *CgA* paātrina brūču dzīšanu un veicina keratinocītu migrāciju un proliferāciju ādā (Curnis et al., 2012). Ir aprakstīta korelācija starp *CgA* līmeni plazmā un aknu fibrozes pakāpi (El-Fatah et al., 2016). Tomēr pētījumi par *CgA* iesaisti fibrotisku procesu gadījumos ir sporādiski un funkcionālā *CgA* loma intraabdominālos saaugumos ir neskaidra. Mūsu novērojums par kopumā retām *CgA* šūnām, kas būtiski neatšķīrās arī no kontroles grupas, liek domāt par to, ka šim faktoram nav būtiskas lomas intraabdominālu saaugumu patoģenēzē. Tomēr itāļu pētnieks *Angelo Corti* aprakstījis, ka *CgA* regulē stromas veidošanos audzēju audos, veicinot ekstracelulārās matricē proteīnu sintēzi fibroblastos (Corti, 2010). Tā kā konstatējām statistiski nozīmīgu vidēji ciešu korelāciju starp pacienta vecumu un *CgA*, nevar izslēgt, ka *CgA* veicina pakāpenisku fibroblastu fenotipa maiņu saaugumu gadījumā.

Saaugumu veidošanās ir komplicēts process, kura patoģenēzē iesaistīta arī iekaisuma atbildes indukcija un citokīnu produkcija (Schanaider et al., 2016; Zhang H. et al., 2016). Iekaisuma un pretiekaisuma citokīni plaši mijiedarbojas ar fibrinolītiskajiem procesiem un sekmē ekstracelulārās matricē remodelāciju. Traucēta ekstracelulārās matricē remodelācijas kontrole var veicināt saaugumu veidošanos pēc peritoneāla bojājuma (Cheong et al., 2002). Līdz šim veikta atsevišķu iekaisuma citokīnu izpēte saaugumos, tomēr trūkst sistematizētu datu

par iekaisuma un pretiekaisuma citokīnu atradni un relatīvo sadalījumu intraabdominālu saaugumu audos.

IL-1 ir galvenais iekaisuma citokīns, kas primāri veicina iekaisuma atbildi (Garlanda et al., 2013). Tiek uzskatīts, ka *IL-1* veicina saaugumu veidošanos, palielinot fibrīna uzkrāšanos un nomācot fibrinolīzi (Maciver et al., 2011). Agrīna *IL-1* paaugstināšanās ir būtisks marķieris pēcoperācijas saaugumu veidošanās procesā (Saba et al., 1998). Vienlaikus citā pētījumā aprakstīts, ka *IL-1* signalizēšana atbrīvo fibroblastu *MMPs*, kam ir nozīme audu destruktijā (Rajshankar et al., 2012). Mūsu pētījumā kopumā novērojām maz līdz vidēji daudz *IL-1* pozitīvo šūnu. Salīdzinot ar kontrolgrupas audiem, *IL-1* atradne intraabdominālu saaugumu audos bija izteikti mazāka, līdz ar to jādoma par neefektīvi noritošu sistēmisko iekaisumu un/vai par to, ka *IL-1* nav būtiskākais iekaisuma citokīns saaugumos.

Jāpiemin, ka novērojām statistiski nozīmīgas korelācijas starp *IL-1* un citiem iekaisuma un pretiekaisuma interleikīniem (*IL-4*, *IL-6*, *IL-7*, *IL-10*), kas liecina par iekaisuma un pretiekaisuma faktoru mijiedarbību intraabdominālu saaugumu morfoloģijā. Zināms un mums likās būtiski, ka *IL-1* inducē iekaisuma citokīna *IL-6* veidošanos fibroblastos, endoteliocītos un monocītos (Tosato & Jones, 1990), kā arī kopā ar *TNF α* veicina *IL-7* produkciju (Weitzmann et al., 2000). *IL-10* nomāc iekaisuma attīstību, galvenokārt bloķējot iekaisuma signālceļu aktivāciju un ierobežojot iekaisuma mediatoru, piemēram, *IL-1*, *IL-6*, *IL-8*, *IFN- γ* , *TNF- α* , sintēzi (Mion et al., 2014).

Mūsu pētījumā nekonstatējām statistiski nozīmīgas *IL-10* atradnes atšķirības starp pētījuma un kontroles grupām. Tomēr kopumā novērotās vidēji daudz līdz daudz *IL-10* pozitīvās šūnas un to saistība ar citiem iekaisuma mediatoriem liek domāt par persistējošu lokālās aizsardzības procesu. To apstiprina citu autoru dati, kuros aprakstīta izteiktāka *IL-10* atradne saaugumu fibroblastos salīdzinājumā ar vēderplēves fibroblastiem (Saed et al., 2001).

Mēs novērojām, ka *IL-10* atradne negatīvi korelē ar *TGFβ* atradni, kas, mūsaprāt, ir būtiska saaugumu veidošanās procesā, jo tādējādi *IL-10* mazina saistaudu veidošanos saaugumu gadījumā. To apstiprina arī citu autoru dati, kuros aprakstīta *IL-10* spēja samazināt *TGFβ* veidošanos un nomākt fibrozes attīstību (Zheng W. et al., 2005). Papildus tam ir aprakstīts, ka *IL-10* pelēm nomāc *MMP-2* un *TIMP-1* ekspresiju aknu fibrozes gadījumā (Chou et al., 2006). Turklāt citi autori pierādījuši, ka *IL-10* regulētā *TGFβ* un *MMP-2* ekspresijas līmeņa samazināšanās izteikti samazina fibrozo audu veidošanos dažādos orgānos, ieskaitot sirdi, plaušas, aknas un nieres (Onishi et al., 2015). Analizējot *IL-10* saistību ar *MMP-2* un *TIMP-2*, vidēji cieša saistība tika konstatēta ar *TIMP-2*, savukārt saistība ar *MMP-2* bija vāja, kas liecina par *MMP-2/TIMP-2* disbalansa veidošanos.

IL-4 veicina brūču dzīšanu un audu remodelācijas procesu, tas ir galvenais makrofāgu pretiekaisuma atbildes stimulators (Wang & Joyce, 2010). *IL-4* ierosina izmaiņas makrofāgu morfoloģijā, respektīvi, *IL-4* veicina makrofāgu agregātu jeb gigantisku multinukleāru šūnu veidošanos (Binder et al., 2013). Jāatzīmē, ka arī mūsu pētījumā gandrīz 20 % gadījumu novērojām gigantiskās multinukleārās šūnas. Kopumā konstatējām statistiski nozīmīgi mazāk *IL-4* pozitīvu šūnu saaugumu grupā, salīdzinot ar kontrolgrupas audiem. *IL-4* trūkums saaugumu gadījumā varētu liecināt par izmaiņām humorālajā imunitātē un arī būt gigantisko epitelioido šūnu veidošanās iniciators.

Mēs konstatējām vidēji ciešu, pozitīvu korelāciju starp *IL-4* un *MMP-2* atradni, kā arī vāju, pozitīvu korelāciju starp *IL-4* un *TIMP-2* atradni intraabdominālu saaugumu audos. Līdz šim nav publicētu datu par *IL-4* saistību ar matricas remodelāciju regulējošiem faktoriem saaugumu audos, tomēr šo faktoru mijiedarbība aprakstīta brūču dzīšanas un ādas remodelācijas procesā. Ir pierādīts, ka *IL-4* pozitīvi korelē ar *MMP-2* tiem pacientiem, kuriem brūču dzīšanas vietā attīstījusies lokāla infekcija (Nessler et al., 2014). *MMPs* un

TIMPs regulē līdzīgi citokīni (*IL-1*, *IL-4*, *IL-6*, *TNF α*) un augšanas faktori (*HGF*, *TGF β*), tomēr *IL-4* nomāc *MMPs* sintēzi makrofāgos, neietekmējot *TIMPs* veidošanos (Sun J., 2010). Vēl citā pētījumā apgalvots, ka *IL-1* un *TNF α* neietekmē *TIMP-2* biosintēzi, bet *IL-4* stimulē *TIMP-2* ekspresiju ādas fibroblastos. *IL-4* veicina ekstracelulārās matricas proteīnu veidošanos gan normālas brūču dzīšanas, gan patoloģiskas fibrozes gadījumā (Ihn et al., 2002). Mēs pieļaujam, ka *IL-4* trūkums un *MMP-2/TIMP-2* disbalanss uztur saaugumu veidošanos un papildus epitelioido šūnu veidošanās norāda uz audu disbalansa padziļināšanos.

IL-8 ir viens no būtiskākajiem citokīniem, kas veicina neitrofilo leukocītu aktivāciju un nodrošina to migrāciju uz iekaisuma vietu (Henkels et al., 2011). Izvērtējot savstarpējās korelācijas starp *IL-8* un citiem interleikīniem (*IL-6*, *IL-7*, *IL-10*) mūsu pētījuma saaugumu audos, novērojām vidēji ciešas statistiski nozīmīgas korelācijas, kas liecina par iekaisumu regulējošo citokīnu savstarpējo mijiedarbību. Šī atradne atbilst citu autoru datiem, kuros aprakstīta *IL-8* sekrēcijas stimulācija citu iekaisuma citokīnu ietekmē. *IL-6* var ierosināt un veicināt *IL-8* izdalīšanu no tuklajām šūnām (McHale et al., 2018). Turklāt citi autori ir pierādījuši, ka iekaisuma citokīnu kombinācija ar *HGF* vēl izteiktāk palielina *IL-8* veidošanos. *HGF*, mijiedarbojoties ar *IL-1*, inducē *IL-8* sekrēciju fibroblastos (Unger & McGee, 2011). Gan *HGF*, gan *IL-8* ekspresiju inducē hipoksija (Le et al., 2012). Mūsu pētījumā novērojām vidēji ciešu korelāciju starp *IL-8* un *HGF*, tomēr statistiski nozīmīgas korelācijas starp *HGF* un *IL-1*, kā arī starp *IL-1* un *IL-8* netika konstatētas. Jāuzsver, ka saaugumu grupā mēs visbiežāk novērojām maz vai maz līdz vidēji daudz *IL-8* pozitīvo struktūru, kas bija statistiski nozīmīgi mazāk nekā kontroles audos. Mūsuprāt, šī atradne norāda uz iespējami kavētu neitrofilo leukocītu hemotaksi saaugumu gadījumā, kas paildzina iekaisuma norisi. To netieši apstiprina iekaisuma šūnu infiltrācija un epitelioido šūnu veidošanās saaugumu audos.

Mūsu pētījumā kopumā novērojām vidēji daudz *IL-6* pozitīvo struktūru, tomēr nekonstatējām statistiski nozīmīgu atšķirību starp saaugumu un kontroles grupām. Jādomā, ka *IL-6* spēj uzturēt iekaisuma procesu audos, tomēr šis citokīns nav specifisks intraabdominālu saaugumu patoģenēzē. *IL-6* pieaugums novērots peritoneālajā šķidrumā pacientiem pēc intraabdominālām ķirurģiskām manipulācijām (Jin et al., 2016). Galvenie *IL-6* ekspresijas aktivatori ir *IL-1* un *TNF α* (Schmidt-Arras & Rose-John, 2016). Šis fakts izskaidro mūsu novērotās kompleksās sakarības – pozitīvas korelācijas starp *IL-6* un *TNF α* , kā arī *IL-6* un *IL-1* imūnreaktīvajām struktūrām.

IL-7 sekmē fibroblastu un makrofāgu aktivāciju (Bikker et al., 2012). Paaugstināts *IL-7* līmenis plazmā veicina monocītu un makrofāgu migrāciju cauri endotēlijam (Li R. et al., 2011). Literatūrā aprakstīts, ka *IL-7* stimulē citu iekaisuma citokīnu, *IFN- γ* , *TNF- α* , kā arī *IL-10* izdali (Li H. et al., 2015). Mūsu pētījuma rezultāti ir līdzīgi – novērojām pozitīvas korelācijas starp *IL-7* un *IL-1*, *IL-4*, *IL-8* un *IL-10*. Kopumā saaugumos konstatējām vidēji daudz līdz daudz *IL-7* pozitīvo šūnu, kas statistiski nozīmīgi neatšķīrās no kontroles grupas datiem. Tomēr saistība starp *IL-7* un citiem iekaisuma/pretiekauma citokīniem neizslēdz iespēju, ka šis faktors ir nozīmīgs iekaisuma mediators intraabdominālu saaugumu gadījumā. Turklāt jāņem vērā, ka *IL-7* daudzumu, iespējams, ietekmē *TGF β* pozitīvo struktūru daudzums, kas saaugumu audos bija ievērojami lielāks. Šis mūsu pieņēmums sakrīt ar zviedru pētnieku datiem par to, ka *TGF β* nomāc *IL-7* produkciju (Thang et al., 2010).

Mūsu pētījumā nekonstatējām statistiski nozīmīgas atšķirības starp *TNF α* imūnreaktīvo struktūru daudzumu saaugumu grupā un kontroles grupā, tomēr dominējoši vidēji daudz *TNF α* pozitīvās struktūras pieļauj iespēju, ka šis faktors ir iesaistīts intraabdominālu saaugumu patoģenēzē un tā samazinājums varētu ietekmēt saaugumu veidošanos. Ievērojami vairāk *TNF α* raksturīgs saaugumu fibroblastiem, salīdzinot ar veselas vēderplēves fibroblastiem (Ambler et al.,

2012). Eksperimenta žurkām *TNFα* līmeņa samazināšana tiek saistīta ar saaugumu veidošanās samazinājumu (Bayhan et al., 2016). Nomācot *TNFα* aktivitāti eksperimenta žurkām pēc aklās zarnas abrazijas, makroskopiski tika novērota retāka saaugumu veidošanās, tomēr histoloģiskajā atradnē netika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības starp pētījuma grupu, kurā tika bloķēts *TNFα*, un kontroles grupu (Kurukahvecioglu et al., 2007).

Izvērtējot *HBD-2* atradni saaugumu audos, ievērojām, ka *HBD-2* pozitīvu mezoteliocītu ir statistiski nozīmīgi mazāk nekā kontroles grupā. Tomēr ņemot vērā, ka atšķirība bija neliela un kopumā saaugumu audos novērojām vidēji daudz līdz daudz *HBD-2* pozitīvās struktūras, kas statistiski nozīmīgi neatšķīrās no kontroles grupas, jādomā, ka šis antimikrobiālais peptīds saaugumu morfoloģijā nav specifisks faktors, bet piedalās iekaisuma uzturēšanā. To apstiprina arī novērotās vidēji ciešās, pozitīvās korelācijas starp *HBD-2* un iekaisumu regulējošajiem faktoriem (*IL-6*, *IL-10* un *TNFα*). Citu autoru datu par *HBD-2* atradni intraabdominālu saaugumu audos trūkst, tomēr mūsu iegūtie rezultāti sakrīt ar iepriekš aprakstīto *HBD-2* darbību citos audos. *HBD-2* veidošanos stimulē iekaisuma citokīni un organismam patogēnās baktērijas (Habil et al., 2014). Papildus antimikrobiālajai darbībai šis peptīds ietekmē epitēlija un iekaisuma šūnas, veicinot to proliferāciju, citokīnu produkciju un šūnu migrāciju uz iekaisuma vietu (Tewary et al., 2013).

Interesanti, ka statistiski nozīmīgi pozitīvas korelācijas mūsu pētījumā bija vērojamas starp *HBD-2*, *MMP-2* un *TIMP-2*. Līdz šim nav publicētu datu par šo faktoru mijiedarbību saaugumu gadījumā, tomēr atrasts, ka cilvēka konjunktīvas audu fibroblastu *HBD-2* selektīvi palielina *MMP-2* un *TIMP-2* ekspresiju, kas nosaka šūnu migrāciju brūču dzīšanas gadījumā un ekstracelulārās matricas remodelācijas iespējas (Li J. et al., 2006). Ņemot vērā, ka korelācija starp *HBD-2* un *MMP-2* bija cieša, savukārt starp *HBD-2* un *TIMP-2* vidēji cieša, nevar izslēgt, ka arī *HBD-2* veicina disbalansa veidošanos

starp *MMP-2/TIMP-2*, kas savukārt veicina papildus ekstracelulārās matricēs sintēzi un saaugumu veidošanos.

Mūsu pētījumā novērojām variablu *MMP-2* imūnhistoķīmisko atradni, tomēr kopumā *MMP-2* pozitīvo struktūru bija maz līdz vidēji daudz. Netika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības starp pētījuma un kontroles grupu. Tomēr saaugumu audos novērojām statistiski nozīmīgas vidēji ciešas pozitīvas korelācijas starp *MMP-2* un dažādiem iekaisumu regulējošiem faktoriem, to skaitā *IL-4*, *IL-6*, *IL-7*, *IL-8*, kas liecina par *MMP-2* iekaisumu stimulējošo ietekmi intraabdominālu saaugumu morfopatogēnēzē, ko netieši apstiprina arī saaugumu audos raksturīgā iekaisuma aina. Mūsu dati sakrīt ar citu autoru pētījumiem par to, ka iekaisuma process ir atkarīgs no multipliem faktoriem, ieskaitot *MMPs* ekspresiju un to proteolītisko aktivitāti, lokalizāciju un substrāta pieejamību. *MMPs* var gan veicināt, gan nomākt iekaisumu ar tiešu proteolītisku ietekmi uz iekaisuma citokīniem (Manicone & McGuire, 2008). *MMPs* regulē augšanas faktoru un citokīnu, piemēram, *IL-1*, *IL-6*, *TNFα*, veidošanos (Ma et al., 2014).

Saaugumu audos novērojām saistību starp *MMP-2* un *VEGF*, kas liecina par *MMP-2* angiogēnēzi veicinošu ietekmi, ko apstiprina saaugumiem raksturīgā neoangiogēnēzes atradne. Arī citi autori savos pētījumos ir aprakstījuši mijiedarbību starp *MMPs* un *VEGF* (Belotti et al., 2003; Partyka et al., 2012; Araújo et al., 2015). *MMP-2* stimulē angiogēnēzi un palielina *VEGF* atbrīvošanu (Zheng H. et al., 2006). Zināms, ka ilgstoša *MMP-2* ekspresija veicina asinsvadu blīvuma pieaugumu, bet tās deficīts saistāms ar asinsvadu nestabilitāti un samazināšanos (Trivedi et al., 2016). *TIMP-2* var nomākt *VEGF* ekspresiju, inhibējot *MMPs* (Li M. et al., 2014). Mūsu pētījumā novērojām līdzīga ciešuma korelāciju gan starp *MMP-2* un *VEGF*, gan arī starp *TIMP-2* un *VEGF*, kas norāda uz *MMP-2/TIMP-2* savstarpējā balansa nozīmi *VEGF* un angiogēnēzes regulācijā. Ņemot vērā, ka *TIMP-2* saaugumos konstatējām statistiski nozīmīgi

mazāk, tad arī šī atradne apstiprina MMP-2 dominējošu ietekmi uz angioģenēzes stimulāciju.

MMP-2 atradne mūsu pētījumā statistiski nozīmīgi vidēji cieši korelēja ar *TIMP-2*, tomēr *TIMP-2* pozitīvo šūnu daudzums saaugumu grupā bija mazāks salīdzinājumā ar kontroles grupu. Ticams, ka tieši samazinātais *TIMP-2* daudzums, ko novērojām saaugumu audos, ir būtisks faktors saaugumu morfopatogēnēzē, jo tādējādi tiek nodrošināta papildu audu veidošanās. To apstiprina saaugumu audiem raksturīga morfoloģiskā aina ar lieliem kolagēno šķiedru sakopojumiem un haotiski novietotiem, blīviem saistaudu kūlīšiem. Arī citu autoru darbos aprakstīts, ka līdzsvars starp *MMPs* un *TIMPs* ekspresiju regulē normālu brūču dzīšanu. Ekspresijas izmaiņas var traucēt dzīšanas procesu vai radīt papildu audu veidošanos, piemēram, peritoneālu saaugumu veidošanos (Chegini, Zhao et al., 2002). Neatbilstība starp *MMPs* un *TIMPs* ir iesaistīta slimībās, kurām raksturīga fibrozu audu veidošanās (Dohi et al., 2015).

TIMP-2 ir duāla iedarbība uz *MMP-2*: zemās koncentrācijās tas aktivē *MMP-2* priekštečus, bet augstās koncentrācijās pilnībā nomāc šo reakciju (Dohi et al., 2015). Mūsu pētījumā kopumā novērojām vidēji daudz *TIMP-2* pozitīvu struktūru, tomēr saaugumu grupā izteikti mazāk tika novēroti *TIMP-2* pozitīvie endoteliocīti un fibroblasti, kas vēlreiz norāda uz disbalansa veidošanos starp *MMP-2/TIMP-2*. Savstarpējā *TIMP-2* un *MMP-2* neatbilstība liecina par fibrozi veicinošiem apstākļiem peritoneālo saaugumu gadījumā. Palielināta *MMP-2* aktivitāte un samazināts *TIMP-2* ekspresijas daudzums ievērojami palielina *MMP-2/TIMP-2* savstarpējo attiecību, kas sekmē fibrozes attīstību (Chen X. et al., 2014). *TIMP-2* trūkums sekmē monocītu/makrofāgu invāziju (Di Gregoli et al., 2016) un veicina kolagēna sintēzes un uzkrāšanās pieaugumu (Dohi et al., 2015).

Mūsu pētījumā novērojām vidēji ciešas korelācijas starp *TIMP-2* un *IL-1*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, *TNFα*. Jāņem vērā, ka ciešākas korelācijas saaugumu audos

novērojām starp iekaisuma citokīniem un *TIMP-2*, nevis *MMP-2*, kas vēl izteiktāk rada novēroto *MMP-2/TIMP-2* disbalansu, tādējādi veicinot saaugumu veidošanos. Iekaisumu regulējošo citokīnu un *TIMP-2* mijiedarbība saaugumu audos līdz šim nav aprakstīta, tāpēc mūsu atradne vērtējama kā unikāla. Tomēr šo faktoru mijiedarbība pētīta citos audos, kur arī novērots *TIMP-2* pieaugums iekaisuma citokīnu ietekmē (Watanabe et al., 2002). Ir aprakstīts, ka *TNF α* un *IL-1 β* iesaistās *TIMPs* regulācijā (Li Y. et al., 1999). *IL-6* inducē *TIMP-2* sekrēciju, kas pastiprina *MMP/TIMP* disbalansa veidošanos (Badr, 2016).

Diskusijas nobeidumā jāuzsver, ka mūsu pētījumā pirmo reizi ar imūnhistoķīmijas metodi ir kompleksi analizēti intraabdominālu saaugumu veidošanās un norises morfoloģiskie aspekti bērniem līdz gada vecumam. Intraabdominālo saaugumu audos tika konstatēta palielināta *TGF β* atradne, samazināta *HGF* atradne, kā arī *FGF-2/FGFR1* un *MMP-2/TIMP-2* disbalanss, kas kopumā rada labvēlīgus apstākļus fibrozes attīstībai, audu remodelācijas traucējumiem un saaugumu veidošanai. Saaugumu audos raksturīgs neoangiogēnes process un *VEGF* pozitīvu makrofāgu pieaugums. Ticams, ka hipoksisks bojājums radījis novēroto *PGP 9.5* pozitīvo struktūru samazinājumu. *IL-1*, *IL-4* un *IL-8* samazināšanās ir svarīgākās iekaisumu regulējošo citokīnu izmaiņas intraabdominālu saaugumu patoģenēzē. Iekaisums intraabdominālu saaugumu audos saistāms arī ar antimikrobā peptīda *HBD-2* pieaugumu, kas nespecifiski sekmē iekaisuma uzturēšanu.

Tādējādi kopumā varam teikt, ka intraabdominālus saaugumus bērniem raksturo palielināta *TGF β* , *VEGF*, *FGFR1* un samazināta *FGF-2*, *HGF*, *PGP 9.5*, *IL-1*, *IL-4*, *IL-8*, *TIMP-2* atradne. Būtiskākie aspekti, kas ietekmē saaugumu veidošanos un uzturēšanu bērniem, ir saistīti ar izmaiņām ekstracelulārās matricas remodelācijā, neoangiogēnes veicināšanu un ilgstošu iekaisuma uzturēšanu.

4. SECINĀJUMI

1. Jaundzimušo saaugumus raksturo nespecifiskas audu pārmaiņas kā fibroze un neoangioģenēze. Savukārt, modificētas formas mezoteliocīti, fibroblasti, kas tādi izveidojušies šūnu fenotipa maiņas rezultātā, un gigantšūnu klātbūtne vērtējamas kā specifiskas saaugumu pazīmes uz ilgstoša iekaisuma fona.

2. Statistiski nozīmīga *TGFβ* relatīvā daudzuma palielināšanās un *HGF* saturošo struktūru relatīvā daudzuma samazināšanās saaugumu audos liecina par irdeno saistaudu augšanas/reģenerācijas potenciālu un šo faktoru fibrozi veicinošo lomu intraabdominālu saaugumu patoģenēzē. Savukārt, sakarība starp mazāk izteikto *FGF-2* un vairāk izteikto *FGFR1* atradni pierāda kompensatoru receptoru stimulāciju kā atbildi šī paša faktora trūkumam saaugumu gadījumā.

3. Intraabdominālu saaugumu audus raksturo statistiski nozīmīgi palielināts *VEGF* saturošo makrofāgu daudzums, kas norāda uz audu išēmiju un neoangioģenēzes stimulāciju saaugumu gadījumā. Saaugumu veidošanās pastiprināšanu pamato arī *VEGF* korelācijas ar *IL-10* un *MMP-2*, kuri palielina augšanas faktoru izdali un endoteliocītu proliferāciju persistējoša iekaisuma apstākļos.

4. Kopumā statistiski nozīmīgais saaugumu *PGP 9.5* pozitīvo struktūru samazinājums apstiprina hipoksijas inducētu ilgstošu bojājumu, ko mēģina kompensēt *TNFα* stabila ekspresija, radot statistiski nozīmīgu korelāciju starp *PGP 9.5* un *TNFα*. Savukārt, konstatētā novatorā *PGP 9.5* atradne/sintēze fibroblastos un makrofāgos korelācijā ar *TGFβ*, *MMP-2* un *TIMP-2* pastiprina fibrozes veidošanos.

5. Līdzīgā *CgA* atradne saaugumu audos un kontroles grupas audos apstiprina, ka šim faktoram nav specifiska loma tiešā saaugumu

morfopatoģenēzē, bet tā statistiski nozīmīgā korelācija ar pacientu vecumu pamato fibroblastu fenotipa maiņu jaundzimušo intraabdominālos saaugumos.

6. Intraabdominālu saaugumu audos novērotā galvenokārt neizteiktā *IL-1* un izteiktā *IL-10* atradne liecina par dominējošu audu lokālo aizsardzības reakciju saaugumu gadījumā. Tomēr statistiski nozīmīgās korelācijas starp *IL-1* un interleikīniem, kā *IL-4*, *IL-6*, *IL-7*, liecina par tieši šī pro-inflamatorā citokīna veidotu citu citokīnu indukciju saaugumu gadījumā ilgstošā laika posmā. Papildus, *IL-4* pozitīvo struktūru mazināšanās varētu būt tiešais iemesls gigantšūnu veidošanai, bet *IL-8* pozitīvo struktūru samazināšanās pamato kavētu iekaisuma šūnu hemotaksi ar iekaisuma norises pagarināšanos. Visbeidzot, *IL-7* pakļaujas *TGFβ* inhibīcijai saaugumu morfopatoģenēzē un tādējādi veicina iekaisuma procesa uzturēšanu audos ilgstošā laika posmā.

7. Līdzīgais *HBD-2* pozitīvo struktūru relatīvais daudzums intraabdominālu saaugumu un veselos audos, un statistiski nozīmīgās korelācijas starp *HBD-2* un iekaisuma/pretiekauma citokīnu izdali norāda uz šī antimikrobiālā peptīda nespecifisku līdzdalību iekaisuma atbildes reakcijā. Tomēr *HBD-2* korelācija ar *MMP-2* un *TIMP-2* norāda uz iespējamu *HBD-2* stimulēta disbalansa veidošanos starp audu remodelācijas faktoriem ar sekojošu ekstracelulārās matricē sintēzi un saaugumu veidošanos.

8. Intraabdominālos saaugumos ir izteikta audu deģenerācijas enzīmu audu inhibitoru (*TIMP-2*) samazināšanās, kamēr deģenerācijas enzīmu (*MMP-2*) ekspresija būtiski neatšķiras no kontroles grupas. Līdzsvara traucējumi starp *MMP-2* un *TIMP-2* apstiprina remodelācijas procesu mazināšanos un fibrozes attīstību.

9. Intraabdominālus saaugumus raksturo pieaugoša *TGFβ*, *VEGF*, *FGFR1* ekspresija un samazināta *FGF-2*, *HGF*, *PGP 9.5*, *IL-1*, *IL-4*, *IL-8*, *TIMP-2* ekspresija, kas norāda uz šo faktoru lomu saaugumu patoģenēzē. Būtiskākās izmaiņas vērojamas ekstracelulārās matricē remodelācijā,

neoangiogēnēzes veicināšanā, ilgstoša atipiska dekompensējoša iekaisuma uzturēšanās un savdabīgā audu faktoru *circulus vitiosus* veidošanās, kas vērsts uz fibrozes veidošanu audu iekaisuma atbildes izsīkuma apstākļos. Tādējādi svarīgākie marķieri jaundzimušo saaugumu prognostikā un diagnostikā ir *TGFβ*, *VEGF*, *HGF*, *IL-1* un *IL-4*.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Ambler, D., Fletcher, N., Diamond, M. and Saed, G. 2012. Effects of hypoxia on the expression of inflammatory markers IL-6 and TNF- α in human normal peritoneal and adhesion fibroblasts. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 58 (6), 324–329.
2. Araújo, R. F., Lira, G. A., Vilaça, J. A. et al. 2015. Prognostic and diagnostic implications of MMP-2, MMP-9, and VEGF- α expressions in colorectal cancer. *Pathology - Research and Practice*. 211 (1), 71–77.
3. Badr, A. M. 2016. Interleukin-6 induces secretion of tissue inhibitors of metalloproteinases by breast carcinoma cells. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 29 (6), 1969–1975.
4. Barcz, E., Milewski, L., Dziunycz, P. et al. 2012. Peritoneal cytokines and adhesion formation in endometriosis: an inverse association with vascular endothelial growth factor concentration. *Fertility and Sterility*. 97 (6), 1380–1386.
5. Baroni, A., Donnarumma, G., Paoletti, I. et al. 2009. Antimicrobial human beta-defensin-2 stimulates migration, proliferation and tube formation of human umbilical vein endothelial cells. *Peptides*. 30 (2), 267–272.
6. Basbug, M., Bulbul, N., Camci, C. et al. 2011. The Effect of Antivascular Endothelial Growth Factor on the Development of Adhesion Formation in Laparotomized Rats: Experimental Study. *Gastroenterology Research and Practice*. 2011: 578691.
7. Bayhan, Z., Zeren, S., Kocak, F. E. et al. 2016. Antiadhesive and anti-inflammatory effects of pirlfenidone in postoperative intra-abdominal adhesion in an experimental rat model. *Journal of Surgical Research*. 201 (2), 348–355.
8. Belotti, D., Paganoni, P., Manenti, L. et al. 2003. Matrix metalloproteinases (MMP9 and MMP2) induce the release of vascular endothelial growth factor (VEGF) by ovarian carcinoma cells: implications for ascites formation. *Cancer Research*. 63 (17), 5224–5229.
9. Bi, J., Zhang, S., Du, Z. et al. 2017. Peripheral serotonin regulates postoperative intra-abdominal adhesion formation in mice. *Scientific Reports*. 7, 10001.
10. Bianchi, E., Boekelheide, K., Sigman, M. et al. 2016. Ghrelin inhibits post-operative adhesions via blockade of the TGF- β signaling pathway. *PLoS ONE*, 11 (4), e0153968.
11. Bigatto, V., De Bacco, F., Casanova, E. et al. 2015. TNF- α promotes invasive growth through the MET signaling pathway. *Molecular Oncology*. 9 (2), 377–388.
12. Bikker, A., Hack, C. E., Lafeber, F. P. and van Roon, J. A. 2012. Interleukin-7: a key mediator in T cell-driven autoimmunity, inflammation, and tissue destruction. *Current Pharmaceutical Design*. 18 (16), 2347–2356.
13. Binder, F., Hayakawa, M., Choo, M. K. et al. 2013. Interleukin-4-induced β -catenin regulates the conversion of macrophages to multinucleated giant cells. *Molecular Immunology*. 54 (2), 157–163.
14. Binnebösel, M., Klinge, U., Rosch, R. et al. 2008. Morphology, quality, and composition in mature human peritoneal adhesions. *Langenbeck's Archives of Surgery*. 393 (1), 59–66.

15. Bishop, P., Rocca, D. and Henley, J. M. 2016. Ubiquitin C-terminal hydrolase L1 (UCH-L1) structure, distribution and roles in brain function and dysfunction. *Biochemical Journal*. 473 (16), 2453–2462.
16. Bochaton-Piallat, M. L., Gabbiani, G. and Hinz, B. 2016. The myofibroblast in wound healing and fibrosis: answered and unanswered questions. *F1000Research*. 5: F1000 Faculty Rev-752.
17. Chegini, N. 2008. TGF-beta system: the principal profibrotic mediator of peritoneal adhesion formation. *Seminars in Reproductive Medicine*. 26 (4), 298–312.
18. Chegini, N., Zhao, Y., Kotseos, K. et al. 2002. Differential expression of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of MMP in serosal tissue of intraperitoneal organs and adhesions. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 109 (9), 1041–1049.
19. Chen, P., Liu, K., Hsu, P. et al. 2014. Induction of immunomodulatory monocytes by human mesenchymal stem cell-derived hepatocyte growth factor through ERK 1/2. *Journal of Leukocyte Biology*. 96 (2), 295–303.
20. Chen, X., Guo, Z., Wang, P. and Xu, M. 2014. Erythropoietin modulates imbalance of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in doxorubicin- induced cardiotoxicity. *Heart, Lung and Circulation*. 23 (8), 772–777.
21. Cheong, Y. C., Laird, S. M., Shelton, J. B. et al. 2002. The correlation of adhesions and peritoneal fluid cytokine concentrations: a pilot study. *Human Reproduction*. 17 (4), 1039–1045.
22. Chou, W., Lu, C., Lee, T. et al. 2006. Electroporative interleukin-10 gene transfer ameliorates carbon tetrachloride-induced murine liver fibrosis by MMP and TIMP modulation. *Acta Pharmacologica Sinica*. 27 (4), 469–476.
23. Christodoulidis, G., Tsilioni, I., Spyridakis, M. E. et al. 2013. Matrix metalloproteinase-2 and -9 serum levels as potential markers of intraperitoneal adhesions. *Journal of Investigative Surgery*. 26 (3), 134–140.
24. Cocolini, F., Ansaloni, L., Manfredi, R. et al. 2013. Peritoneal adhesion index (PAI): proposal of a score for the "ignored iceberg" of medicine and surgery. *World Journal of Emergency Surgery*. 8, 6.
25. Corti, A. 2004. Chromogranin A in Tumor and Vascular Biology. *Cell Biology of the Chromaffin Cell*. 117–128.
26. Corti, A. 2010. Chromogranin a and the tumor microenvironment. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 30 (8), 1163–1170.
27. Coudriet, G. M., He, J., Trucco, M. et al. 2010. Hepatocyte growth factor modulates interleukin-6 production in bone marrow derived macrophages: implications for inflammatory mediated diseases. *PLoS One*, 5 (11), e15384.
28. Curnis, F., Gasparri, A. M. and Longhi, R. 2012. Chromogranin a binds to alphaVbeta6-integrin and promotes wound healing in mice. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 69 (16), 2791–2803.
29. Darby, I. A., Laverdet, B., Bonte, F. and Desmouliere, A. 2014. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 7, 301–311.
30. Di Gregoli, K., George, S. J., Jackson, S. L. et al. 2016. Differential effects of tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 and TIMP-2 on atherosclerosis and monocyte/macrophage invasion. *Cardiovascular Research*. 109 (2), 318–330.

31. Dohi, T., Miyake, K., Aoki, M. et al. 2015. Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 suppresses collagen synthesis in cultured keloid fibroblasts. *Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open*. 3 (9), e520.
32. Dolivo, D. M., Larson, S. A. and Dominko, T. 2017. Fibroblast growth factor 2 as antifibrotic: Antagonism of myofibroblast differentiation and suppression of pro-fibrotic gene expression. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 38, 49–58.
33. El-Fatah, W., El-Kader, M. and Abdel-Hak, M. 2016. Laminin and chromogranin A as serum markers of liver fibrosis in hepatocellular carcinoma. *Clinical Medicine and Diagnostics*. 6 (2), 21–31.
34. Erben, U., Loddenkemper, C., Doerfel, K. et al. 2014. A guide to histomorphological evaluation of intestinal inflammation in mouse models. *International Journal of Clinical & Experimental Pathology*. 7 (8), 4557–4576.
35. Esposito, C., Parrilla, B., Cornacchia, F. et al. 2009. The antifibrogenic effect of hepatocyte growth factor (HGF) on renal tubular (HK-2) cells is dependent on cell growth. *Growth Factors*. 27 (3), 173–180.
36. Esposito, C., Parrilla, B., De Mauri, A. et al. 2005. Hepatocyte growth factor (HGF) modulates matrix turnover in human glomeruli. *Kidney International*. 67 (6), 2143–2150.
37. Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J. and Zeller, R. 2008. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *CSH Protocols*. 2008;pdb.prot4986.
38. Gallo, S., Sala, V., Gatti, S. and Crepaldi, T. 2015. Cellular and molecular mechanisms of HGF/Met in the cardiovascular system. *Clinical Science (Lond)*. 129 (12), 1173–1193.
39. Garlanda, C., Dinarello, C. A. and Mantovani, A. 2013. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity*. 39 (6), 1003–1018.
40. Geng, L., Chaudhuri, A., Talmon, G. et al. 2013. TGF-Beta suppresses VEGFA-mediated angiogenesis in colon cancer metastasis. *PLoS One*. 8 (3), e59918.
41. Ghellai, A., Stucchi, A. F., Chegini, N. et al. 2000. Role of transforming growth factor beta-1 in peritonitis-induced adhesions. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 4 (3), 316–323.
42. Gu, Y., Ding, X., Huang, J. et al. 2018. The deubiquitinating enzyme UCHL1 negatively regulates the immunosuppressive capacity and survival of multipotent mesenchymal stromal cells. *Cell Death & Disease*. 9, 459.
43. Guglielmotto, M., Monteleone, D., Vasciaveo, V. et al. 2017. The decrease of Uch-L1 activity is a common mechanism responsible for A β 42 accumulation in Alzheimer's and vascular disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 9: 320.
44. Habil, N., Abate, W., Beal, J. and Foey, A. D. 2014. Heat-killed probiotic bacteria differentially regulate colonic epithelial cell production of human β -defensin-2: dependence on inflammatory cytokines. *Beneficial Microbes*. 5 (4), 483–495.
45. Harmey, J. H., Dimitriadis, E., Kay, E. et al. 1998. Regulation of macrophage production of vascular endothelial growth factor (VEGF) by hypoxia and transforming growth factor beta-1. *Annals of Surgical Oncology*. 5 (3), 271–278.
46. Henkels, M. K., Frondorf, K., Gonzalez-Meija, E. M. et al. 2011. IL-8-induced neutrophil chemotaxis is mediated by Janus kinase 3 (JAK3). *FEBS Letters*. 585 (1), 159–166.

47. Horejs, C. M., St-Pierre, J. P., Ojala, J. R. M. et al. 2017. Preventing tissue fibrosis by local biomaterials interfacing of specific cryptic extracellular matrix information. *Nature Communications*. 8, 15509.
48. Hsu, S. M., Raine, L. and Fanger, H. 1981. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *American Journal of Clinical Pathology*. 75 (6), 816–821.
49. Ichikawa, T., Li, J., Dong, X. et al. 2010. Ubiquitin carboxyl terminal hydrolase L1 negatively regulates TNF α -mediated vascular smooth muscle cell proliferation via suppressing ERK activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 391 (1), 852–856.
50. Ihn, H., Yamane, K., Asano, Y. et al. 2002. IL-4 up-regulates the expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in dermal fibroblasts via the p38 mitogen-activated protein kinase dependent pathway. *The Journal of Immunology*. 168 (4), 1895–1902.
51. Itoh, N. and Ornitz, D. M. 2004. Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends in Genetics*. 20 (11), 563–569.
52. Jin, X., Ren, S., Macarak, E. and Rosenbloom, J. 2016. Pathobiological mechanisms of peritoneal adhesions: The mesenchymal transition of rat peritoneal mesothelial cells induced by TGF- β 1 and IL-6 requires activation of Erk1/2 and Smad2 linker region phosphorylation. *Matrix Biology*. 51, 55–64.
53. Kariya, T., Nishimura, H., Mizuno, M. et al. 2018. TGF- β 1-VEGF-A pathway induces neoangiogenesis with peritoneal fibrosis in patients undergoing peritoneal dialysis. *American Journal of Physiology Renal Physiology*. 314 (2), 167–180.
54. Kashpur, O., LaPointe, D., Ambady, S. et al. 2013. FGF2-induced effects on transcriptome associated with regeneration competence in adult human fibroblasts. *BMC Genomics*. 14, 656.
55. Koo, H. Y., El-Baz, L. M., House, S. et al. 2018. Fibroblast growth factor 2 decreases bleomycin-induced pulmonary fibrosis and inhibits fibroblast collagen production and myofibroblast differentiation. *The Journal of Pathology*. 246 (1), 54–66.
56. Kosaka, H., Yoshimoto, T., Yoshimoto, T. et al. 2008. Interferon-gamma is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. *Nature Medicine*. 14 (4), 437–441.
57. Kurukahvecioglu, O., Koksak, H., Gulbahar, O. et al. 2007. Infliximab "TNF-alpha antagonist" decreases intraabdominal adhesions. *Saudi Medical Journal*. 28 (12), 1830–1835.
58. Leask, A. and Abraham, J. D. 2004. TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB Journal*. 18 (7), 816–827.
59. Le, Q., Fisher, R., Oliner, K. S. et al. 2012. Prognostic and predictive significance of plasma HGF and IL-8 in a phase III trial of chemoradiation with or without tirapazamine in locoregionally advanced head and neck cancer. *Clinical Cancer Research*. 18 (6), 1798–1807.
60. Li, H. Y., Zhang, D. L., Zhang, X. et al. 2015. Interleukin-7 is decreased and maybe plays a pro-inflammatory function in primary immune thrombocytopenia. *Platelets*. 26 (3), 243–249.
61. Li, J., Raghunath, M., Lareu, R., et al. 2006. Defensins HNP1 and HBD2 stimulation of wound-associated responses in human conjunctival fibroblasts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 47 (9), 3811–3819.

62. Li, M., Wang, Z., Xing, Y. et al. 2014. A multicenter study on expressions of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in oral and maxillofacial squamous cell carcinoma. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 16 (3), e13185.
63. Li, R., Paul, A., Ko, K. W. et al. 2011. Interleukin-7 induces recruitment of monocytes/macrophages to endothelium. *European Heart Journal*. 33 (24), 3114–3123.
64. Li, Y. Y., McTiernan, C. F. and Feldman, A. M. 1999. Proinflammatory cytokines regulate tissue inhibitors of metalloproteinases and disintegrin metalloproteinase in cardiac cells. *Cardiovascular Research*. 42 (1), 162–172.
65. Liakakos, T., Thomakos, N., Fine, P. M. et al. 2001. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. *Digestive Surgery*. 18 (4), 260–273.
66. Lillie, R. D., Pizzolatio, P. and Donaldson, P. T. 1976. Hematoxylin substitutes: a survey of mordant dyes tested and consideration of the relation of their structure to performance as nuclear stains. *Stain Technology*. 51 (1), 25–41.
67. Lima, I. V., Bastos, L. F., Limborço-Filho, M. et al. 2012. Role of Prostaglandins in Neuroinflammatory and Neurodegenerative Diseases. *Mediators of Inflammation*. 2012, 946813.
68. Luzina, I. G., Keegan, A. D., Heller, N. M. et al. 2012. Regulation of inflammation by interleukin-4: a review of "alternatives". *Journal of Leukocyte Biology*. 92 (4), 753–764.
69. Ma, Y., de Castro Brás, L. E., Toba, H. et al. 2014. Myofibroblasts and the extracellular matrix network in post-myocardial infarction cardiac remodeling. *Pflugers Archiv - European Journal of Physiology*. 466 (6), 1113–1127.
70. Maciver, A. H., McCall, M. and James Shapiro, A. M. 2011. Intra-abdominal adhesions: cellular mechanisms and strategies for prevention. *International Journal of Surgery*. 9 (8), 589–594.
71. Manicone, A. M. and McGuire, J. K. 2008. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 19 (1), 34–41.
72. McHale, C., Mohammed, Z., Deppen, J. and Gomez, G. 2018. Interleukin-6 potentiates FcεRI-induced PGD₂ biosynthesis and induces VEGF from human in situ-matured skin mast cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 1862 (5), 1069–1078.
73. Meyer, M., Müller, A. K., Yang, J. et al. 2012. FGF receptors 1 and 2 are key regulators of keratinocyte migration in vitro and in wounded skin. *Journal of Cell Science*. 125 (Pt 23), 5690–5701.
74. Mion, F., Tonon, S., Toffoletto, B. et al. 2014. IL-10 production by B cells is differentially regulated by immune-mediated and infectious stimuli and requires p38 activation. *Molecular Immunology*. 62 (2), 266–276.
75. Montalvo-Javé, E. E., Mendoza-Barrera, G. E., Garcia-Pineda, M. A. et al. 2016. Histological analysis of intra-abdominal adhesions treated with sodium hyaluronate and carboxymethylcellulose gel. *Journal of Investigative Surgery*. 29 (2), 80–87.
76. Nagai, H., Chew, S. H., Okazaki, Y. et al. 2013. Metamorphosis of mesothelial cells with active horizontal motility in tissue culture. *Scientific Reports*. 3, 1144.

77. Nakamura, T. and Mizuno, S. 2010. The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 86 (6), 588–610.
78. Nessler, M., Puchala, J., Chrapusta, A. et al. 2014. Levels of plasma matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in response to INTEGRA® dermal regeneration template implantation. *Medical Science Monitor*. 20, 91–96.
79. Ohashi, K., Yoshimoto, T., Kosaka, H. et al. 2014. Interferon γ and plasminogen activator inhibitor 1 regulate adhesion formation after partial hepatectomy. *British Journal of Surgery*. 101 (4), 398–407.
80. Onishi, A., Akimoto, T., Urabe, M. et al. 2015. Attenuation of methylglyoxal-induced peritoneal fibrosis: immunomodulation by interleukin-10. *Laboratory Investigation*. 95 (12), 1353–1362.
81. Partyka, R., Gonciarz, M., Jalowicki, P. et al. 2012. VEGF and metalloproteinase 2 (MMP 2) expression in gastric cancer tissue. *Medical Science Monitor*. 18 (4), 130–134.
82. Pilmane, M., Luts, A. and Sundler, F. 1995. Changes in neuroendocrine elements in bronchial mucosa in chronic lung disease in adults. *Thorax*. 50 (5), 551–554.
83. Pohlers, D., Brenmoehl, J., Löffler, I. et al. 2009. TGF-beta and fibrosis in different organs - molecular pathway imprints. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 1792 (8), 746–756.
84. Presta, M., Andrés, G., Leali, D. et al. 2009. Inflammatory cells and chemokines sustain FGF2-induced angiogenesis. *European Cytokine Network*. 20 (2), 39–50.
85. Rajshankar, D., Downey, G. P. and McCulloch, C. A. 2012. IL-1 β enhances cell adhesion to degraded fibronectin. *The FASEB Journal*. 26 (11), 4429–4444.
86. Ravikanth, M., Soujanya, P., Manjunath, K. et al. 2011. Heterogeneity of fibroblasts. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 15 (2), 247–250.
87. Riffenburgh, R. H. 2012. Chapter 11 - Tests on Ranked Data. In: *Statistics in Medicine (Third Edition)*. California: Elsevier Inc., 221–248.
88. Riffenburgh, R. H. 2012. Chapter 21 - Regression and Correlation. In: *Statistics in Medicine (Third Edition)*. California: Elsevier Inc, 443–472.
89. Rout, U. K., Oommen, K. and Diamond, M. P. 2000. Altered expressions of VEGF mRNA splice variants during progression of uterine-peritoneal adhesions in the rat. *American Journal of Reproductive Immunology*. 43 (5), 299–304.
90. Saba, A. A., Godziachvili, V., Mavani, A. K. and Silva, Y. J. 1998. Serum levels of interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha correlate with peritoneal adhesion grades in humans after major abdominal surgery. *The American Surgeon*. 64 (8), 734–736.
91. Saed, G. M., Zhang, W. and Diamond, M. P. 2001. Molecular characterization of fibroblasts isolated from human peritoneum and adhesions. *Fertility and Sterility*. 75 (4), 763–768.
92. Schanaider, A., Cotta-Pereira, R., Silva, P. C. et al. 2016. Exogenous pulmonary surfactant prevents the development of intra-abdominal adhesions in rats. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 20 (4), 632–643.
93. Schmidt-Arras, D. and Rose-John, S. 2016. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *Journal of Hepatology*. 64 (6), 1403–1415.

94. Shmarov, V. A., Malashchenko, V. V., Meniailo, M. E. et al. 2016. Direct effects of interleukin-7 on the function of human T cells in vitro. *European Cytokine Network*. 27 (4), 102–107.
95. Stefanini, M., De Martino, C. and Zamboni, L. 1967. Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. *Nature*. 216 (5111), 173–174.
96. Sulpice, E., Ding, S., Muscatelli-Groux, B. et al. 2009. Cross-talk between the VEGF-A and HGF signalling pathways in endothelial cells. *Biology of the Cell*. 101 (9), 525–539.
97. Sun, H. J., Cai, W. W., Gong, L. L. et al. 2017. FGF-2-mediated FGFR1 signaling in human microvascular endothelial cells is activated by vaccarin to promote angiogenesis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 95, 144–152.
98. Sun, J. 2010. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases are essential for the inflammatory response in cancer cells. *Journal of Signal Transduction*. 2010, 985132.
99. Tang, E., Khan, I., Andreana, S. and Arany, P. R. 2017. Laser-activated transforming growth factor- β 1 induces human β -defensin 2: implications for laser therapies for periodontitis and peri-implantitis. *Journal of Periodontal Research*. 52 (3), 360–367.
100. Tewary, P., de la Rosa, G., Sharma, N. et al. 2013. β -Defensin 2 and 3 promote the uptake of self or CpG DNA, enhance IFN- α production by human plasmacytoid dendritic cells, and promote inflammation. *The Journal of Immunology*. 191 (2), 865–874.
101. Thang, P. H., Ruffin, N., Brodin, D. et al. 2010. The role of IL-1 β in reduced IL-7 production by stromal and epithelial cells: a model for impaired T-cell numbers in the gut during HIV-1 infection. *Journal of Internal Medicine*. 268 (2), 181–193.
102. Tiriveedhi, V., Banan, B., Deepti, S. et al. 2014. Role of defensins in the pathogenesis of chronic lung allograft rejection. *Human Immunology*. 75 (4), 370–377.
103. Tosato, G. and Jones, K. D. 1990. Interleukin-1 induces interleukin-6 production in peripheral blood monocytes. *Blood*. 75 (6), 1305–1310.
104. Trivedi, A., Zhang, H., Ekeledo, A. et al. 2016. Deficiency in matrix metalloproteinase-2 results in long-term vascular instability and regression in the injured mouse spinal cord. *Experimental Neurology*. 284 (Pt A), 50–62.
105. Turk, J. L. and Narayanan, R. B. 1982. The origin, morphology, and function of epithelioid cells. *Immunobiology*. 161 (3-4), 274–282.
106. Turner, K., Genta, R. M., Lujan, G. et al. 2014. Significance of the epithelioid granuloma in biopsies of Chron's colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*. 20 (12), 2271–2275.
107. Ucar, E., Borazan, A., Semerci, E. et al. 2010. The effects of interferon alpha2b on chemically-induced peritoneal fibrosis and on peritoneal tissue MMP-2 and TIMP-2 levels in rats. *Journal of International Medical Research*. 38 (1), 187–194.
108. Unger, B. L. and McGee, D. W. 2011. Hepatocyte growth factor and keratinocyte growth factor enhance IL-1-induced IL-8 secretion through different mechanisms in Caco-2 epithelial cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*. 47 (2), 173–181.
109. Vallée, A., Lecarpentier, Y., Guillevin, R. and Vallée, J. N. 2017. Interactions between TGF- β 1, canonical WNT/ β -catenin pathway and PPAR γ in radiation-induced fibrosis. *Oncotarget*. 8 (52), 90579–90604.

110. Verrecchia, F. and Mauviel, A. 2007. Transforming growth factor-beta and fibrosis. *World Journal of Gastroenterology*. 13 (22), 3056–3062.
111. Wang, H. W. and Joyce, J. A. 2010. Alternative activation of tumor-associated macrophages by IL-4: priming for protumoral functions. *Cell Cycle*. 9 (24), 4824–4835.
112. Wang, P., Shu, B., Xu, Y. et al. 2017. Basic fibroblast growth factor reduces scar by inhibiting the differentiation of epidermal stem cells to myofibroblasts via the Notch1/Jagged1 pathway. *Stem Cell Research & Therapy*. 8 (1), 114.
113. Watanabe, M., Hasegawa, S., Ohshima, N. et al. 2002. Differential regulation of MMP-2, TIMP-2 and IL-6 in valve replacement versus CABG patients. *Perfusion*. 17 (6), 435–439.
114. Wei, G., Chen, X., Wang, G. et al. 2016. Effect of resveratrol on the prevention of intra-abdominal adhesion formation in a rat model. *Cell Physiology and Biochemistry*. 39 (1), 33–46.
115. Weitzmann, M. N., Cenci, S., Rifas, L. et al. 2000. Interleukin-7 stimulates osteoclast formation by up-regulating the T-cell production of soluble osteoclastogenic cytokines. *Blood*. 96 (5), 1873–1878.
116. Wilson, C. L., Murphy, L. B., Leslie, J. et al. 2015. Ubiquitin C-terminal hydrolase 1: A novel functional marker for liver myofibroblasts and a therapeutic target in chronic liver disease. *Journal of Hepatology*. 63 (6), 1421–1428.
117. Wu, W. K., Llewellyn, O. P., Bates, D. O. et al. 2010. IL-10 regulation of macrophage VEGF production is dependent on macrophage polarisation and hypoxia. *Immunobiology*. 215 (9-10), 796–803.
118. Zhang, H., Song, Y., Li, Z. et al. 2016. Evaluation of breviscapine on prevention of experimentally induced abdominal adhesions in rats. *The American Journal of Surgery*. 211 (6), 1143–1152.
119. Zhang, S., Yang, C., Chen, M. et al. 2009. Histologic study of adhesions in the upper joint compartment of the temporomandibular joint. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 67 (6), 1184–1190.
120. Zheng, H., Takahashi, H., Murai, Y. et al. 2006. Expressions of MMP-2, MMP-9 and VEGF are closely linked to growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma. *Anticancer Research*. 26 (5A), 3579–3583.
121. Zheng, W., Zhang, L., Shi, M. et al. 2005. Expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hepatic stellate cells during rat hepatic fibrosis and its intervention by IL-10. *World Journal of Gastroenterology*. 11 (12), 1753–1758.
122. Zimmermann, H. W., Seidler, S., Gassler, N. et al. 2011. Interleukin-8 is activated in patients with chronic liver diseases and associated with hepatic macrophage accumulation in human liver fibrosis. *PLoS One*. 6 (6), e21381.
123. Zittermann, S. and Issekutz, A. C. 2006. Basic fibroblast growth factor (bFGF, FGF-2) potentiates leukocyte recruitment to inflammation by enhancing endothelial adhesion molecule expression. *The American Journal of Pathology*. 168 (3), 835–846.

PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

Zinātniskie raksti (6)

1. **Augule A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. 2015. Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF), Fibroblast Growth Factor Receptor 1 (FGFR1), Transforming Growth Factor Beta (TGF- β) and Chromogranin A (CgA) Appearance in Congenital Intra-abdominal Adhesions in Children under One Year of Age. *British Journal of Medicine & Medical Research*. 10 (11): 1-9.
2. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. 2018. Interleukin-1, 4, 6, 7, 8, 10 (IL-1, 4, 6, 7, 8, 10) Appearance in Congenital Intra-abdominal Adhesions in Children under One Year of Age. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 26 (9): 664-669.
3. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. 2018. Iekaisuma procesu regulējošo citokīnu sastopamība intraabdominālu saaugumu audos bērniem līdz gada vecumam. *RSU Zinātniskie raksti 2017*. 154-165.
4. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. 2018. Tumor Necrosis Factor alpha (TNF α), Protein Gene Product 9.5 (PGP 9.5), Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 (TIMP-2) Appearance in Congenital Intra-Abdominal Adhesions in Children under One Year of Age. *Archives of Medical Science*. Pieņemts publicēšanai 19.03.2018.
5. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. 2018. The Distribution of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Human Beta-Defensin-2 (HBD-2) and Hepatocyte Growth Factor (HGF) in Intra-Abdominal Adhesions in Children under One Year of Age. *The World Scientific Journal*. Article ID 5953095, 7 pages.

6. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. 2019. The Morphopathogenetic Aspects of Intraabdominal Adhesions in Children under One Year of Age. *Medicina (Kaunas)*. 55(9): 556.

Tēzes un prezentācijas starptautiskās konferencēs (8)

1. **Augule A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “Basic fibroblast growth factor (bFGF) and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) appearance in congenital intra-abdominal adhesions in children under one year of age”, Rīga Stradiņš University Student international conference “Health and Social Sciences” tēzes, Rīga 2015. Tēžu grāmata 309.-310. lpp. (Mutisks ziņojums, 2.vieta).
2. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “A correlative comparison of the epidemiologic profile and the morphologic finding in children with congenital intra-abdominal adhesions”, The 8th Baltic morphology scientific conference: Interdisciplinary nature of contemporary morphology tēzes, Viļņa 2015. Tēžu grāmata 46. lpp. (Mutisks ziņojums).
3. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “Interleukin-1, 4, 6, 7, 8, 10 (IL-1, 4, 6, 7, 8, 10) appearance in congenital intra-abdominal adhesions in children under one year of age”, European Paediatric Surgeon’s Association 17th European Congress tēzes, Milāna 2016. Tēžu grāmata 154. lpp. (Stenda referāts).
4. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “The occurrence of inflammation regulating cytokines in congenital intraabdominal adhesions in children under 1 year of age”, European Paediatric Surgeon’s Association 18th European Congress tēzes, Limassol (Kipra) 2017. Tēžu grāmata 205. lpp. (Stenda referāts).

5. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “The occurrence of fibrosis modulating factors, transforming growth factor beta and chromogranin A in intraabdominal adhesions in infants”, IX Baltic Morphology tēzes, Tartu 2017. Tēžu grāmata 54. lpp. (Mutisks ziņojums).
6. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “Tumor necrosis factor α (TNF α), protein gene product 9.5 (PGP 9.5) and extracellular matrix remodeling factor appearance in congenital intra-abdominal adhesions in children under one year of age”, World Summit on Pediatrics 4th Edition tēzes, Madride 2018. Tēžu grāmata 95. lpp. (Stenda referāts).
7. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “Vascular endothelial growth factor (VEGF), human beta-defensin-2 (HBD-2) and hepatocyte growth factor (HGF) appearance in congenital intra-abdominal adhesions in children under one year of age”, XXVI International Symposium on Morphological Sciences tēzes, Prāga 2018. Tēžu grāmata 32. lpp. (Stenda referāts).
8. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “The significance of growth factors, degenerating enzymes, inflammatory and antimicrobial factors in the morpho-pathogenesis of intraabdominal adhesions in infants”, Rīga Stradiņš University International Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge For Use in Practice” tēzes, Rīga 2019. Tēžu grāmata 563. lpp. (Mutisks ziņojums).

Tēzes un prezentācijas vietēja mēroga konferencēs Latvijā (5)

1. **Augule A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “Bāziskā fibroblastu augšanas faktora (bFGF), fibroblastu augšanas faktora receptora 1 (FGFR1), transformējošā augšanas faktora beta (TGF- β) un hromogranīna A (CgA) ekspresija iedzimtu intraabdominālu saaugumu gadījumos bērniem līdz gada

- vecumam”, Rīgas Stradiņa universitātes XX studentu morfoloģisko zinātņu konference, 2015. Tēžu grāmata 9.-10. lpp. (Mutisks ziņojums, 1.vieta).
2. Volrāts O., **Augule A.**, Pilmane M., Ābola Z. “Transforming growth factor beta (TGF- β), basic fibroblast growth factor (bFGF) and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) appearance in congenital intra-abdominal adhesions in children under one year of age”, Rīgas Stradiņa universitātes 2015. gada Zinātniskā konference. Tēžu grāmata 236. lpp. (Stenda referāts).
3. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “Interleikīnu 1, 6, 7, 10 sastopamība un relatīvais sadalījums iedzimtu intraabdominālu saaugumu gadījumos bērniem līdz gada vecumam”, Rīgas Stradiņa universitātes 2016. gada Zinātniskā konference. Tēžu grāmata 153. lpp. (Mutisks ziņojums).
4. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “Iekaisuma procesu regulējošo citokīnu sastopamība intraabdominālu saaugumu audos bērniem līdz gada vecumam”, Rīgas Stradiņa universitātes 2017. gada Zinātniskā konference. Tēžu grāmata 182. lpp. (Stenda referāts).
5. **Junga A.**, Pilmane M., Ābola Z., Volrāts O. “Iekaisuma procesu regulējošo citokīnu, fibrozi modulējošo faktoru, transformējošā augšanas faktora β un hromogranīna A sastopamība intraabdominālu saaugumu audos bērniem līdz gada vecumam”, Rīgas Stradiņa universitātes 2018. gada Zinātniskā konference. Tēžu grāmata 146. lpp. (Mutisks ziņojums).

PATEICĪBAS

Vēlos izteikt vislielāko pateicību manai darba vadītājai *Dr. habil. med.* profesorei Mārai Pilmanei par ieguldīto darbu, sniegto atbalstu un vērtīgajiem padomiem promocijas darba tapšanas gaitā.

Ļoti pateicos otrai darba vadītājai *Dr. med.* asociētai profesorei Zanei Ābolai par atsaucību, noderīgajiem padomiem un palīdzību pētījuma materiāla savākšanas procesā.

Liels paldies manam zinātniskā darba konsultantam *Dr. med.* Olafam Volrātam par atbalstu darba tapšanā un palīdzību pētījuma materiāla savākšanas procesā.

Pateicos par atbalstu visam Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta kolektīvam. Īpašs paldies Morfoloģijas laboratorijas laborantei Natālijai Morozai par palīdzību preparātu sagatavošanā.

Sirsnīgs paldies manai draudzenei un kolēģei *Dr. Annai Valainei* par morālu un tehnisku atbalstu darba tapšanā.

Vislielākais paldies manai ģimenei, īpaši manai mammai un vīram, par atbalstu, izturību, sapratni un rūpēm.