

24. *Hu C., Wang P., Zhang S., Ren L., Lv Y., Yin R., Bi J.* Neuroprotective effect of melatonin on soluble A β 1-42-induced cortical neurodegeneration via Reelin-Dab1 signaling pathway. *Neuro Res.* 2017; 39(7):621–631. DOI: 10.1080/01616412.2017.1312805
25. *Коржевский Д. Э., Григорьев И. П., Гусельникова В. В., Колос Е.А., Петрова Е. С., Кирик О. В.* и др. Иммуногистохимические маркеры для нейробиологии // Медицинский академический журнал. 2019. Т. 19. № 4. С. 7–24. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ16548>
26. *Korzhevskii D. E., Grigor'ev I. P., Gusel'nikova V. V., Kolos E. A., Petrova E. S., Kirik O. V.* et al. Immunohistochemical markers for neurobiology // *Medical Academic Journal.* 2019; 19(4):7–24. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ16548>
27. *González L. L., Garrie K., Turner M. D.* Role of S100 proteins in health and disease. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 2020; 1867(6):118677. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2020.118677

УДК 616-001.45-001.5

Шперлинг И. А., Шулепов А. В., Ростовцев С. О., Баженов М. В., Семакин Р. В.

САНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАННЕЙ КОРРЕКЦИИ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ МЕСТНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПРИ ВЗРЫВНОЙ ТРАВМЕ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Аннотация. Цель работы: изучение эффективности раннего перифокального применения геля гиалуроновой кислоты (ГК) при лечении взрывной травмы мягких тканей в эксперименте (ВТ).

Методика работы включала анализ степени выраженности отека поврежденной конечности, проявлений посттравматического рабдомиолиза и гистоморфологических изменений в поврежденной мышце в условиях раннего местного применения ГК.

Контингент испытуемых был представлен 3 группами: основная, сравнения и интактная. Общее количество: 58 крыс-самцов линии Вистар, возраст 3,5–4 месяца. Интактная группа без повреждений, у остальных моделировалась ВТ в соответствии с ранее предложенной методикой.

Основные результаты эксперимента показали, что раннее локальное применение ГК при ВТ мягких тканей снижает выраженность микроциркуляторных нарушений в области повреждения, уменьшает долю некротизированных мышечных волокон, стимулирует неомиогенез с увеличением доли мышечной ткани в формируемом соединительнотканном регенерате.

Ключевые слова: взрывная травма, рабдомиолиз, гиалуроновая кислота, регенерация, микроциркуляция, гистоморфология.

Shperling I. A., Shulepov A. V., Rostovtsev S. O., Bazhenov M. V., Semakin R. V.

SANOGENETIC MECHANISMS OF EARLY CORRECTION OF LOCAL DAMAGES OF SOFT TISSUES IN EXPLOSIVE TRAUMA WITH HYALURONIC ACID (EXPERIMENTAL STUDY)

State Scientific Research Test Institute of the military medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to study the effectiveness of early perifocal application of hyaluronic acid (HA) gel in the treatment of experimental explosive trauma soft tissue (ET).

The methodology of the work included an analysis of the severity of edema of the damaged limb, manifestations of post-traumatic rhabdomyolysis and histomorphological changes in the damaged muscle under conditions of early topical injection of HA.

The contingent of subjects was represented by three groups: main, comparison and intact. A total of 58 male Wistar rats, 3.5–4 months old. The intact group without damage, the rest were modeled in accordance with the previously proposed method.

The main results of the experiment showed that early local application of HA in soft tissue ET reduces the severity of microcirculatory disorders in the area of injury, reduces the proportion of necrotized muscle fibers, stimulates neomyogenesis with an increase in the proportion of muscle tissue in the formed connective tissue regenerate.

Keywords: explosive trauma, rhabdomyolysis, hyaluronic acid, regeneration, microcirculation, histomorphology.

ВВЕДЕНИЕ

Взрывная травма (ВТ) является результатом воздействия на организм человека высокоэнергетических боеприпасов, которые часто приводят к формированию обширных и глубоких повреждений, в значительной степени ограничивающих возможности применения традиционных лечебных и восстановительных мероприятий. В последние несколько лет сохраняется повышенный интерес к ВТ в связи с продолжающимися локальными военными конфликтами и высокой террористической напряженностью в мире [1, 2]. Экспериментальные исследования показали, что при ВТ в области повреждения отмечаются выраженные нарушения микроциркуляции, которые оказывают негативное влияние на локальные репаративные процессы и увеличивают число неблагоприятных исходов [3]. Большинство специалистов по военно-полевой хирургии указывают на необходимость коррекции микроциркуляторных расстройств при лечении огнестрельных повреждений, однако эти рекомендации в настоящее время не носят обязательного характера [4]. Все чаще при лечении различных повреждений применяются средства, содержащие компоненты внеклеточного матрикса (ВКМ), которые уменьшают выраженность микроциркуляторных нарушений, способствуют клеточной адгезии, миграции и пролиферации клеток [5]. Использование гиалуроновой кислоты (ГК), по данным Zamora J. C. и соавт. (2021) сопровождается более ранним формированием и созреванием грануляционной ткани в области повреждения [6]. Локальное введение ГК в мягкие ткани в ранние сроки

после травмы показало свою эффективность при лечении закрытых ишемических повреждений скелетных мышц [7]. Механизмы влияния перифокальных инъекций ГК на регенерацию скелетной мышечной ткани при взрывной травме, сопровождающейся обширными повреждениями мягких тканей, еще далеки до окончательного понимания и требуют дальнейшего изучения.

Цель исследования: изучить саногенетические механизмы восстановления скелетных мышц при экспериментальной взрывной травме после раннего перифокального введения геля гиалуроновой кислоты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводились на 58 крысах-самцах линии Вистар массой 350 ± 25 г, возрастом 3,5–4,0 месяцев, полученных из питомника «Рапполово» (Россия, Ленинградская область). Исследования проводились в строгом соответствии с требованиями протокола № 13 от 22.06.2020 локального Комитета по этике ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны РФ. После 2-недельного карантина со свободным доступом к еде и воде всех животных разделили на три группы: основную (n = 24), сравнения (n = 24) и интактную (n = 10). Животным основной группы и группы сравнения наносили взрывную травму способом, описанным ранее [8]. Интактные животные взрывному воздействию не подвергались. Через 3 часа после нанесения травмы животным основной группы проводили первичную хирургическую обработку (ПХО) раны с последующим перифокальным внутримышечным введением по периферии раневого дефекта 1,75%-ного раствора ГК в виде геля из расчета 2,0 мг/кг массы животного, животным группы сравнения — проводили ПХО раны без локального применения ГК. Всем животным со взрывной раной на область раневого дефекта накладывали повязку с мазью «Левомеколь». перевязки с мазью «Левомеколь» проводили ежедневно в течение 7 суток вплоть до образования струпа на месте раневого дефекта.

Оценка выраженности посттравматического отека осуществлялась путем измерений окружности поврежденного бедра животного с последующим расчетом индекса отека/атрофии, то есть отношения окружности поврежденного бедра к окружности неповрежденного бедра животного [9]. Оценка степени рабдомиолиза оценивалась по концентрации миоглобина и калия в сыворотке крови. Миоглобин определяли методом твердофазного ИФА с применением двух типов моноклональных антител (АО «Вектор-Бест», Россия) на автоматическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology, США), а калий — турбодиметрическим методом с помощью набора Калий-Ольвекс (ООО «Ольвекс Диагностикум», Россия). Состояние микроциркуляции в скелетных мышцах оценивали с помощью аппаратно-программного комплекса «ЛАКК-М» (НПП «Лазма», Россия). В исследовании определяли показатели микроциркуляции M и σ , Kv. Для гистологического исследования использовали фрагменты скелетных мышц размером 1 см³, которые фиксировали в 10%-ном забуференном растворе формалина, а затем обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в парафин. С помощью микротомы ротационного CUT 4062 (SLEE medical, GmbH, Германия) готовили срезы толщиной 5–7 мкм, которые затем окрашивали гематоксилином и эозином. Гистоморфологическая оценка поврежденных тканей включала измерение диаметра «старых» мышечных волокон, диаметра

новообразованных мышечных трубок, долю некротизированных мышечных волокон, площадь, занятую новообразованными элементами скелетной мышечной ткани в мышечно-соединительнотканном регенерате.

Данные, полученные при настоящем исследовании, фиксировались в картах для статистической обработки материала. С учетом специфики задач использовались методы, встроенные в программную среду Statistica 10.0 для Windows. Определение типа распределения массива данных проводили по критерию Шапиро — Уилка. Непрерывные переменные в исследуемых выборках представлены в виде медианы (Me) с 1-м и 3-м квартилями [Q25; Q75]. Для определения статистической значимости различий между двумя независимыми выборками применяли критерий Манна — Уитни. Различие между выборками считали статистически значимыми, если вероятность их тождества оказывалась менее 5% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Визуальный осмотр животных показал наличие обширных ран бедра с повреждением всех элементов мягких тканей (кожа, подкожно-жировая клетчатка и скелетные мышцы). Раннее перифокальное введение геля ГК (основная группа) приводило к сокращению воспалительной фазы раневого процесса до $6,5 \pm 0,3$ суток по сравнению с ее продолжительностью у животных группы сравнения $8,3 \pm 0,4$ суток ($p < 0,05$). Закрытие раневого дефекта у крыс основной группы наступало к 17–21-м суткам, в то время как в группе сравнения этот срок был увеличен (26–29-е сутки) ($p < 0,05$). Индекс отека/атрофии у животных, которым вводили гель ГК, на 3–7-е сутки после взрывной травмы был на 9,5–10,1% ($p < 0,05$) меньше, чем у травмированных крыс группы сравнения. К 14-м суткам указанный индекс у животных основной группы не имел существенных различий с его значением у интактных животных. Положительный эффект ГК заключался в уменьшении выраженности посттравматической атрофии, которая была на 20,5% ($p < 0,05$) менее выражена, чем в группе без локального лечения. Локальное применение геля ГК способствовало улучшению микроциркуляции в мягких тканях области раны преимущественно за счет увеличения переменной составляющей перфузии (σ), которая имела высокие значения относительно показателя животных группы сравнения — больше на 48,9–56,1% ($p < 0,05$) на 3–7-е сутки и на 67,9% ($p < 0,05$) к исходу 28-х суток. Интегральный коэффициент K_v в эти же сроки был соответственно на 43,4–59,5% ($p < 0,05$) и на 30,9% ($p < 0,05$) выше, чем у крыс группы сравнения.

Гистоморфологическая картина повреждения скелетных мышц при взрывной травме на 3-и сутки эксперимента характеризовалась некротическими изменениями в скелетной мышечной ткани с разрушением сарколеммы, лизосом и дезинтеграцией миофибрилл, а также отеком межмышечной соединительной ткани. Локальное введение геля ГК приводило к уменьшению количества некротизированных мышечных волокон на 25,7% ($p < 0,05$) уже на 3-и сутки после травмы по сравнению с его значением у животных группы сравнения. На 7–14-е сутки доля некротизированных миофибрилл в гистологическом препарате скелетных мышц бедра несколько уменьшалась и достигала к исходу 14-х суток 31,2 [24,3; 39,8]% в основной группе и 32,7 [25,8; 43,3]% в группе сравнения.

Средний диаметр предсуществующих «старых» мышечных волокон во все сроки наблюдения практически совпадал во всех экспериментальных группах (основной и сравнения) и составлял на 3-и сутки соответственно 320,4 [303,4; 362,4] и 314,3 [260,7; 365,6] мкм; на 7-е сутки он несколько снижался, составляя 306,7 [292,2; 350,7] и 303,7 [268,1; 356,4] мкм соответственно; на 14-е сутки — 354,5 [324,4; 384,0] и 337,2 [297,8; 386,4] мкм соответственно, на 28-е сутки этот показатель был равен 331,7 [301,6; 398,1] и 330,9 [296,5; 375,6] мкм. Диаметр новообразованных мышечных трубок при взрывной ране у животных основной группы и группы сравнения на 7-е сутки не имел существенных межгрупповых различий. К 14-м суткам этот показатель в основной группе увеличивался на 59,8% ($p < 0,05$), а в группе сравнения на 41,6% ($p < 0,05$) относительно предыдущего срока наблюдения (7-е сутки). На 28-е сутки после травмы диаметр вновь сформированных мышечных трубок несколько уменьшался и не имел различий с его значением в основной группе и группе сравнения. Применение геля ГК приводило к увеличению доли мышечной ткани в мышечно-соединительнотканном регенерате к исходу 28-х суток на 26,0% ($p < 0,05$) относительно группы сравнения. Полного восстановления поврежденной скелетной мышцы в области взрывной раны на фоне проводимого локального лечения не наблюдалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, раннее локальное введение геля гиалуроновой кислоты при взрывной травме способствует снижению выраженности микроциркуляторных нарушений в мягких тканях области повреждения, что способствует уменьшению доли некротизированных мышечных волокон в раннюю фазу раневого процесса и увеличению доли мышечной ткани в мышечно-соединительнотканном регенерате.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Лернер А. А., Фоменко М. В.* Использование принципов «Damage control» при лечении тяжелых повреждений конечностей // *Новости хирургии.* 2012. Т. 20. № 3. С. 128–132.
2. *Плиш Н. Ю., Кривенко С. Н., Медведев Д. И., Тригубенко С. Л., Аль-Зоуби Ф. М., Чирах П. Ф.* и др. Результаты лечения пострадавших с минно-взрывными травмами // *Вестник неотложной и восстановительной хирургии.* 2019. Т. 4. № 3. С. 90–104.
3. *Шперлинг И. А., Ростовцев С. О., Шулепов А. В.* и др. Особенности микроциркуляции и метаболизма в коже и мягких тканях области повреждения при экспериментальной взрывной травме // *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* 2022. Т. 24(1). С. 101–110. Doi: <https://doi.org/10.17816/brmma71464>
4. *Военно-полевая хирургия локальных войн и вооруженных конфликтов. Руководство для врачей / Под ред. Е. К. Гуманенко, И. М. Самохвалова.* М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 672 с.
5. *Rousselle P., Montmasson V., Garnier C.* Extracellular matrix contribution to skin wound re-epithelialization *Matrix Biology.* 2019;75-76:12–26. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.01.002>

6. Zamora J. C., Guimaraes V., Rogachev G. V., et al. Direct fusion measurement of the 8B proton-halo nucleus at near-barrier energies. *Physics Letters B*. 2021;816. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physletb.2021.136256>
7. Шперлинг И. А., Шулепов А. В., Одицова И. А. и др. Саногенетические механизмы ранней коррекции гиалуроновой кислотой местных повреждений мягких тканей при компрессионной травме (экспериментальное исследование) // *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*. 2022. Т. 23. С. 573–595.
8. Шперлинг И. А., Виноградов М. В., Семакин Р. В. и др. Микроциркуляторные и метаболические изменения в мягких тканях в динамике раневого процесса при взрывной травме в эксперименте // *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021. Т. 41(5). С. 16–24. DOI: <https://doi.org/10.18699/SSMJ20210502>
9. Wang W., Wang Y., Yang J. Protective effects of ischemic postconditioning on skeletal muscle following crush syndrome in the rat. *Acta Cir. Bras*. 2021; 36(7):e360701. DOI: 10.1590/ACB360701

УДК:[599.323.4:616-018]:612.81

¹Юкина Г. Ю., ¹Сухорукова Е. Г., ²Тагандурдыева Н. А., ¹Половников И. В.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИЛАКТИДНЫХ КОНДУИТОВ С ХИТОЗАНОВЫМИ НАПРАВЛЯЮЩИМИ ВОЛОКНАМИ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация*

²*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Российская Федерация*

Аннотация. Целью работы является проведение сравнительного морфологического анализа полилактидных кондуитов с направляющими хитозановыми волокнами с углеродными нанотрубками, используемых для регенерации периферических нервов в эксперименте на крысах.

Методика работы заключается в моделировании дефекта седалищного нерва крыс, замещении полилактидными кондуитами, наполненными хитозановыми моноволокнами, содержащими одностенные углеродные нанотрубки, анализе срезов нерва и кондуита.

Основные результаты работы показали, что волокна с высокой концентрацией (2,5 мас.%) углеродных нанотрубок вызывают выраженное хроническое асептическое воспаление. Хитозановые моноволокна с содержанием углеродных нанотрубок 0,05 мас.% деформируются под действием компрессионных сил со стороны окружающих тканей, в то время как композиционное волокно с содержанием 0,5 мас.% углеродных нанотрубок оказалось наиболее удачным вариантом направляющих волокон в кондуите, так как не вызывает значительного воспаления и не подвергается деформации.