

МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ КОЖИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КОМПРЕССИОННОЙ ТРАВМЕ

Шперлинг И.А.¹, Кузьмина О.Ю.¹, Шперлинг Н.В.¹, Одинцова И.А.²,

Шулепов А.В.¹, Шеладев И.В.¹

¹ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России, 195043, Лесопарковая 4, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБВОУВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, 194044, Санкт-Петербург, Россия

Телефон: +7(911)150-03-03, e-mail: shperling1@yandex.ru

Резюме

Цель исследования. Оценить параметры микроциркуляции и метаболизма в ткани кожи в зоне компрессионной травмы мягких тканей конечности у крыс в эксперименте.

Материалы и методы. Исследование проведено на 36 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 350 - 400 гр. в возрасте 4,5-5 мес. Животным (30 особей) в опытной группе моделировали под наркозом компрессионную травму мягких тканей бедра путем механической компрессии тисками (время компрессии 7 часов с силой давления 10-12 кг/см²). После декомпрессии для профилактики обезвоживания в течение 3 сут ежедневно в хвостовую вену вводили 0,9% раствор натрия хлорида в дозе 2,0 мл/кг массы тела. В интактной группе (6 особей) были здоровые животные без моделирования компрессионной травмы. Сразу после снятия тисков и далее через 3 ч, 1, 3, 7, 14 и 28 сут визуально оценивали состояние травмированной конечности на предмет наличия ран, изменения цвета кожных покровов, кроме того, аппаратным способом оценивали микроциркуляцию и окислительный метаболизм в коже зоны компрессии с помощью лазерного анализатора кровотока «ЛАКК-М» (ООО НПП «Лазма», Россия). **Результаты.** В течение 28 сут эксперимента в опытной группе животных (с компрессионной травмой) погибли 30% животных (9 особей) в течение первых 7 сут эксперимента: через 3 ч – 1; 1 сут – 3; 3 сут – 3; 7 сут – 2. У крыс в посткомпрессионном периоде изменения микроциркуляции и метаболизма в коже имели волнообразный характер. Наибольшие изменения показателей произошли в период 3 ч - 7 сут после декомпрессии тканей. Так через 3 ч после декомпрессии произошло усиление микроциркуляции в 3 раза. Кислородопотребление тканями достигло 90% от интактной группы ($p \leq 0,05$), метаболическая активность напротив - снизилась на 30% ($p \leq 0,05$). К концу первых суток наметилась тенденция к снижению параметров микроциркуляции на фоне продолжающегося повышения

кислородопотребления тканями и активации аэробного пути метаболизма. В этот период оксидация поврежденных клеток может способствовать образованию активных форм кислорода и в последующем - некрозу клеток, что подтверждено появлением хаотичных точечных зон некроза. Далее нарушения микроциркуляции и метаболизма прогрессировали. Максимально через 7 сут от начала эксперимента микроциркуляция снизилась на 80% (от интактной группы, $p \leq 0,05$), а интенсивность тканевого обмена кислорода и метаболическая активность снизилась на 31% и 33% от интактных значений ($p \leq 0,05$). Это сопровождалось деструкцией ткани в виде появления ран на месте сухого некроза. Метаболическая активность восстановилась до исходных значений на 14 сут эксперимента, что свидетельствует о восстановлении оставшихся жизнеспособных клеток и переход их на аэробный обмен. К 28 сут отмечен повторный подъем потребления кислорода тканями кожи в 3,5 раза, что может быть связано с активацией клеток регенеративного ряда, синтезом коллагена для формирования рубца. *Заключение.* Наиболее значимые микроциркуляторные и метаболические изменения в коже в посткомпрессионном периоде происходили в период 3 ч – 7 сут. В первые сутки произошли процессы, направленные на восстановление жизнеспособности ткани за счет компенсаторных возможностей организма. К исходу 7-х сут развились деструктивные процессы, приводящие к образованию ран. В последующем происходили процессы пролиферации и рубцевания, обеспеченные восстановлением микроциркуляции и активации метаболической активности тканей кожи. Полученные данные позволили описать процессы повреждения и восстановления тканей кожи у экспериментальных животных в рамках микроциркуляторных и метаболических процессов. Это дает основание для применения данной методологии при оценке направленности патологического процесса при компрессионной травме тканей кожи и эффективности применяемых методов лечения.

Ключевые слова: краш-синдром, кожа, микроциркуляция, метаболизм.

MICROCIRCULATORY AND METABOLIC CHANGES IN SKIN TISSUES DURING EXPERIMENTAL COMPRESSION TRAUMA

Shperling I.A.¹, Kuzmina O.Yu.¹, Shperling N.V.¹, Odincova I.A.²,
Shulepov A.V.¹, Sheladev I.V.¹

¹*State Scientific Research Test Institute of the military medicine of the Russian Federation
Defense Ministry, 4, Lesoparkovaya Str., Saint-Petersburg, 195043, Russian Federation*

²*Military Medical Academy named after S.M. Kirov of the Ministry of Defense of Russia, Saint-
Petersburg, 194044, Russian Federation*

phone: +7(911)150-03-03, e-mail: shperling1@yandex.ru

Abstract

Purpose of the study. To evaluate the parameters of microcirculation and metabolism in the skin tissue in the area of compression injury of soft tissues of the limb in rats in an experiment. *Materials and methods.* The study was carried out on 36 milk-plant male rats of the Vistar line weighing 350 - 400 gr. At the age of 4.5-5 months. Animals (30 individuals) in the experimental group were simulated under anesthesia compression injury of soft thigh tissues by mechanical compression by visits (compression time 7 hours with a pressure force of 10-12 kg / cm²). After decompression for the prevention of dehydration for 3 days, a 0.9% solution of sodium chloride at a dose of 2.0 ml of body was injected into the tail vein daily into the tail vein. In the intact group (6 individuals) were healthy animals without modeling compression injury. Immediately after removing the pisses and then after 3 hours, 1, 3, 7, 14 and 28 days, the state of the injured limb was visually assessed, changes in the color of the skin, in addition, the microcirculation and oxidative metabolism in the skin of the compression zone with The help of the laser analyzer Bloodstock "Lakk-M" (LLC NPP "Lazz", Russia). *Results.* During 28 days of the experiment, 30% of animals (9 individuals) died in the experimental group of animals (with compression trauma) during the first 7 days of the experiment: after 3 hours – 1; 1 day - 3; 3 days - 3; 7 days - 2. In rats in the post-compression period, changes in microcirculation and metabolism in the skin had a wave-like character. The greatest changes in the indicators occurred in the period of 3 hours - 7 days after tissue decompression. So, 3 hours after decompression, microcirculation increased by 3 times. Oxygen consumption by tissues reached 90% of the intact group ($p < 0.05$), metabolic activity, on the contrary, decreased by 30% ($p < 0.05$). By the end of the first day, there was a tendency to decrease the parameters of microcirculation against the background of a continuing increase in oxygen consumption by tissues and activation of the aerobic pathway of metabolism. During this period, the oxidation of damaged cells can contribute to the formation of reactive

oxygen species and, subsequently, cell necrosis, which is confirmed by the appearance of chaotic point zones of necrosis. Further microcirculation and metabolic disorders progressed. After a maximum of 7 days from the beginning of the experiment, microcirculation decreased by 80% (from the intact group, $p < 0.05$), and the intensity of tissue oxygen exchange and metabolic activity decreased by 31% and 33% from the intact values ($p < 0.05$). This was accompanied by tissue destruction in the form of the appearance of wounds at the site of dry necrosis. Metabolic activity was restored to the initial values on the 14th day of the experiment, which indicates the restoration of the remaining viable cells and their transition to aerobic metabolism. By day 28, there was a repeated increase in oxygen consumption by skin tissues by 3.5 times, which may be due to the activation of regenerative cells, collagen synthesis for scar formation. *Conclusion.* The most significant microcirculatory and metabolic changes in the skin in the post-compression period occurred in the period of 3 hours - 7 days. In the first day there were processes aimed at restoring the viability of the tissue due to the compensatory capabilities of the body. By the end of 7 days, destructive processes had developed, leading to the formation of wounds. Subsequently, the processes of proliferation and scarring occurred, provided by the restoration of microcirculation and activation of metabolic activity of skin tissues. The data obtained made it possible to describe the processes of damage and restoration of skin tissues in experimental animals within the framework of microcirculatory and metabolic processes. This provides the basis for the application of this methodology in assessing the direction of the pathological process in compression trauma of skin tissues and the effectiveness of the treatment methods used.

Keywords: crash syndrome, leather, microcirculation, metabolism.

Введение

В чрезвычайных ситуациях более чем у 40% пострадавших диагностируется краш-синдром (МКБ-10: Т 79.6 - синдром позиционного сдавления, синдром раздавливания, миоренальный синдром) – патологический процесс, который развивается после продолжительного нарушения кровоснабжения и ишемии вследствие длительного сдавления извне большой массы мягких тканей. Краш-синдром вначале проявляется местными (некроз тканей в месте компрессии), а затем системными (миоглобинурийный нефроз, эндотоксикоз, полиорганная недостаточность) изменениями структуры и функции тканей. Исход травмы зависит от выраженности эндотоксикоза, степень которого напрямую связана с объемом поврежденной ткани [1].

Пусковым моментом краш-синдрома является ишемия, которая обусловлена изменениями микроциркуляции в зоне повреждения во всех тканях. В зависимости от силы

и продолжительности сдавления тканей время повреждения и гибели клеток (прежде всего в зоне компрессии) варьируется. Однако, при сдавлении длительностью 4-6 часов развитие некроза тканей неизбежно [2].

По статистике, частота летальных исходов при данном синдроме достигает 80-90%, несмотря на проводимое лечение [3]. В связи с этим, в настоящее время продолжается поиск эффективных средств и методов сохранения жизнеспособности мягких тканей в зоне компрессии [4].

В предыдущие годы в основном изучались особенности повреждения мышечной ткани, так как она считается ключевым звеном миоглобинурийной нефропатии и причиной токсикоза в постдекомпрессионном периоде травмы. Однако повреждению тканей кожи при таких состояниях уделено недостаточно внимания. Вместе с тем, состояние кожи играет важную роль в восстановлении всего поврежденного сегмента мягких тканей. Так, авторы статьи об оказании хирургической помощи при землетрясении в Непале (2015) отметили, что повреждение кожи и подкожно-жировой клетчатки встречалось в 30,6% среди всех пострадавших. При этом раны, возникшие у пациентов с краш-синдромом, к окончательному этапу хирургического лечения были готовы на 4-8 дней позже, чем раны, возникшие при одномоментном воздействии травмирующего фактора [5]. В экспериментальном исследовании на бесшерстных крысах установлено, что после сдавления кожи в условиях реперфузионных повреждений происходит индукция активности тиобарбитуровой кислоты и миелопероксидазы, приводящие к воспалению, трансдермальной потере воды и нарушению функции кожного барьера [6].

Учитывая значимость микроциркуляции и метаболической активности тканей в процессах восстановления поврежденных тканей [7] результаты исследования этого важного физиологического компонента жизнеобеспечения тканей кожи может служить ориентиром для оценки состояния тканей и эффективности применяемых средств лечения. Новые методы исследования неинвазивной лазерной доплеровской флоуметрии и спектрофотометрии *in vivo* позволяют дифференцированно оценить изменения микроциркуляторного статуса и метаболической активности тканей.

Цель исследования. Оценить параметры микроциркуляции и метаболизма в ткани кожи в зоне компрессионной травмы мягких тканей конечности у крыс в эксперименте.

Материал и методы

Исследование проведено на 36 половозрелых крысах-самцах линии Вистар, массой 350 - 400 гр., в возрасте 4,5-5 мес, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская

область, Россия), в соответствии с правовыми и этическими нормами проведения экспериментальных исследований на лабораторных животных.

Все животные были разделены на 2 группы: основную (30 особей) и интактную (6 особей). За трое суток до начала эксперимента производили депиляцию кожи правой задней конечности. Перед нанесением травмы крыс наркотизировали внутримышечным введением смеси золетила (Virbac, Франция) и ксилазина (Pharmamagist Ltd., Венгрия) по 10 мг/кг каждого препарата. В первой группе животным моделировали компрессионную травму левого бедра и проводили лечение: для профилактики обезвоживания в течение 3 суток ежедневно в хвостовую вену вводили 0,9% раствор натрия хлорида в дозе 2,0 мл/кг массы тела. Во второй группе были здоровые животные без моделирования компрессионной травмы, лечение не проводили.

В эксперименте была реализована модель компрессионной травмы, предложенная Шулеповым А.В. и соавт. [8]. Для создания механического воздействия использовали металлические тиски, состоящие из пластин площадью 5,0 см² каждая с продольным желобообразным вырезом для предупреждения перелома костей. Контроль силы давления осуществляли с помощью электронного измерительного прибора, состоящего из датчика давления типа FSR, блока преобразователя с цифровым регистратором. Создавали компрессию правой задней конечности с силой давления 10–12 кг/см² в течение 7 ч, при этом в течение первых 20 мин тиски подвинчивали каждые 2 мин (так как при компрессии объем конечности уменьшался, вероятно, из-за обескровливания мышц).

Сразу после снятия тисков и далее через 3 ч, 1, 3, 7, 14 и 28 сут визуально оценивали состояние травмированной конечности на предмет наличия ран, изменения цвета кожных покровов, кроме того, аппаратным способом оценивали микроциркуляцию и окислительный метаболизм в коже зоны компрессии.

Для оценки микроциркуляции и окислительного метаболизма в коже области повреждения использовали лазерный анализатор кровотока «ЛАКК - М» (ООО НПП «Лазма», Россия). Исследования проводили в стандартных условиях лаборатории. За 10 мин до исследования животных наркотизировали путем введения золетила и ксилазина из расчета 10 мг/кг на 10 мг/кг веса тела каждого животного. Устанавливали оптиковолокнозный зонд диаметром 3 мм на кожу в центр области сдавления перпендикулярно поверхности повреждения, на хвосте фиксировали датчик пульсоксиметра. Во время исследования с помощью режима прибора лазерной доплеровской флуометрии (ЛДФ) оценивали показатели микроциркуляции М, σ (измеряются в перфузионных единицах - пф. ед.) и K_v (рассчитывается в программе прибора по формуле: $K_v = \sigma / M \times 100\%$). Об улучшении микроциркуляции свидетельствует увеличение М (постоянная составляющая

перфузии) и K_v (коэффициент вариации). Увеличение σ (переменная составляющая перфузии) свидетельствует о спазме резистивных сосудов как результат активности механизмов регуляции сосудистого тонуса и управления перфузией микроциркуляторного русла [9].

С помощью спектрофотометрического канала прибора определяли показатели сатурации артериальной крови $SpO_2(\%)$ и микроциркуляторного русла зондируемой ткани $SO_2(\%)$. В программе прибора автоматически рассчитывались S_m (S_m (усл.ед.) = SO_2/M) и U (U (усл.ед.) = SpO_2/SO_2). S_m характеризует связь между потоком крови (перфузией) в микроциркуляторном русле и количеством неиспользованного тканями кислорода, его увеличение свидетельствует об уменьшении потребления кислорода тканями. Значение U отражает общее потребление кислорода на единицу объема циркулирующей крови: его увеличение указывает на активность захвата кислорода тканью.

Лазерную флуоресцентную диагностику (ЛФД) использовали для оценки метаболического статуса тканей. На длинах волн излучения 460 нм и 510 нм определяли амплитуду флуоресценции окисленного ($A_{Фад}$, усл.ед.) и восстановленного ($A_{НАДН}$, усл.ед.) природных флуорофоров – коферментов НАДН (никотинамидадениндинуклеотид) и ФАД (флавинадениндинуклеотид), играющих ключевую роль в реакциях энергетического обмена (гликолиз и окислительное фосфорилирование) и являющихся единственными переносчиками электронов, которые способны к флуоресценции [10]. Соотношение интенсивностей их флуоресценции может служить параметром для оценки редокс-отношения клетки и ткани. С использованием полученных значений в ручном режиме рассчитывали отношение окисленных электронных переносчиков к восстановленным: флуоресцентный показатель потребления кислорода (ФПК): $ФПК = A_{Фад} / A_{НАДН}$. Увеличение амплитуды ФАД отражает преобладание окислительных процессов, как следствие повышенного потребления кислорода тканями [11,12]. Доказано участие НАДН в обеспечении внутриклеточной антиоксидантной функции или, напротив, в образовании активных форм кислорода с развитием окислительного стресса [13]. В связи с этим усиление флуоресценции НАДН в ткани в целом свидетельствует о сдвиге клеточного метаболизма в сторону гликолиза и/или снижения митохондриального дыхания [14]. Таким образом, снижение ФПК (в результате повышения НАДН и снижения ФАД) отражает снижение скорости окислительного фосфорилирования (аэробный вариант синтеза аденозинтрифосфата - АТФ) и активацию гликолиза в цитоплазме (анаэробный вариант синтеза АТФ), т.е. указывает на преобладание гликолитического пути метаболизма над окислительным фосфорилированием.

Для статистического анализа результатов исследования использована программа Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). После проверки гипотезы на нормальность распределения для сравнения данных использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Различие между величинами считали достоверным, если вероятность их тождества оказывалась менее 5% ($p \leq 0,05$).

Результаты

В течение 28 сут эксперимента в опытной группе животных (с компрессионной травмой) погибли 30% животных (9 особей) в течение первых 7 сут эксперимента: через 3 ч – 1; 1 сут – 3; 3 сут – 3; 7 сут – 2. Сразу после снятия тисков кожные покровы в зоне повреждения имели выраженный синюшный цвет с четкой демаркационной линией, повреждения целостности кожи не было. Через 3 ч цвет кожных покровов на всей поверхности бедра стал бледно-розовым, демаркационная линия – слабо определялась. К исходу 1-х сут наблюдения в центре зоны повреждения появились точечные, хаотично расположенные зоны сухого некроза кожи, их площадь прогрессивно увеличивалась в динамике эксперимента и через 7 сут после декомпрессии на их месте сформировались единичные раны. Через 14 сут от начала эксперимента раны по передней поверхности зажили вторичным натяжением; через 28 сут отмечались полное оволосение, визуально определяющаяся гипотрофия бедра (относительно неповрежденной конечности) (рисунок 1).

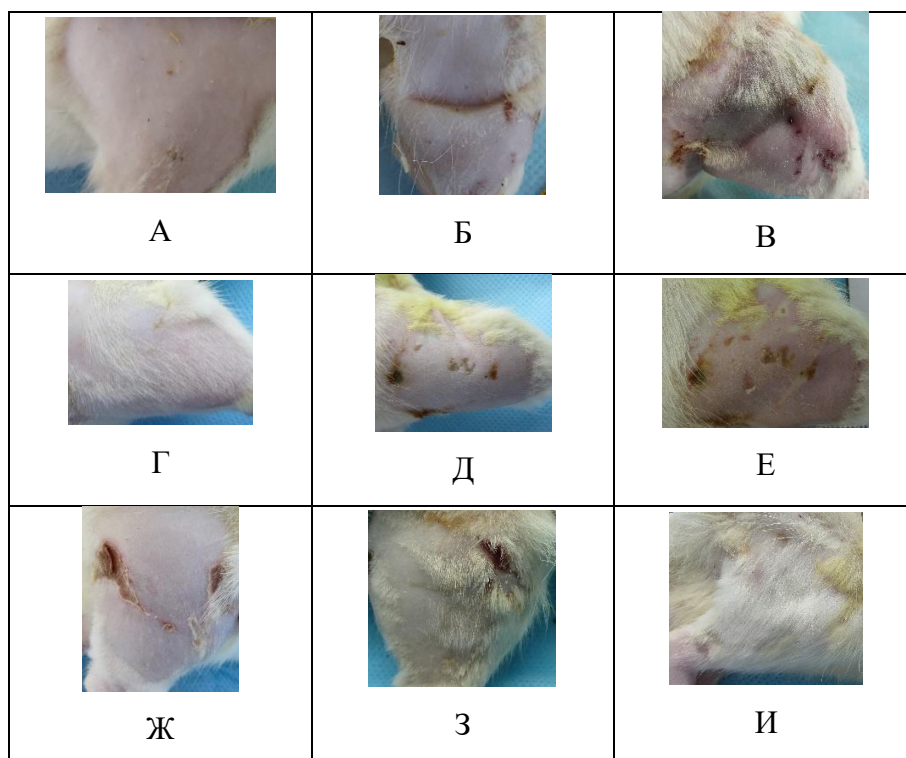


Рисунок 1. Динамика визуальной картины бедра у крысы в области компрессионного повреждения в результате механического сдавления в течение 7 ч с силой давления 10-12 кг/см². А – интактное животное; Б – моделирование компрессионной травмы; В – сразу после декомпрессии; Г – через 3 ч после декомпрессии; Д, Е, Ж, З, И – через 1, 3, 7, 14, 28 сут после декомпрессии соответственно

Результаты оценки микроциркуляции и метаболизма тканей позволили установить их особенности. Так, сразу после снятия компрессии наблюдалось снижение микроциркуляции (K_v) в тканях кожи на 53% ($p \leq 0,05$) относительно показателей у животных в интактной группе. Это объясняется снижением активности механизмов контроля микроциркуляции (по показателю σ) в 4,5 раза ($p \leq 0,05$) и снижением перфузии в тканях кожи в 2 раза ($M=5,89$ пф.ед., $p \leq 0,05$). На фоне ухудшения микроциркуляции происходило снижение потребления O_2 тканями (U) на 31% ($p \leq 0,05$) и интенсивности тканевого обмена (ФПК) на 14% ($p \leq 0,05$), что указывает на перестройку метаболизма в сторону гликолиза. Происходящие события отражают фазу ишемии в синдроме ишемии-реперфузии, при которой в условиях дефицита кислорода нарушается синтеза высокоэнергетических субстратов клетки, запускается каскад патологических реакций, приводящих к нарушению функции ее жизненно важных структур [15].

В последующие 3 ч проявлялись признаки активизации механизмов регуляции микроциркуляторного русла: значения σ выросли в 10 раз ($p \leq 0,05$); перфузия восстановилась до уровня нормы (по показателю M), что в целом привело к усилению микроциркуляции в среднем в 3 раза ($p \leq 0,05$). При этом кислородопотребление тканями (U) увеличилось и достигло 90% ($p \leq 0,05$) относительно средних значений показателей в интактной группе. На фоне повышения микроциркуляции и потребления тканями кислорода метаболическая активность тканей кожи напротив – продолжала динамично снижаться: относительно значений у животных в интактной группе ФПК был меньше в среднем на 30% ($p \leq 0,05$). Таким образом, можно констатировать развитие тканевой (гистотоксической) гипоксии на фоне реперфузии тканей.

К исходу 1-х сут наблюдения наметилась тенденция к снижению параметров микроциркуляции на фоне продолжающегося повышения кислородопотребления тканями и активации аэробного пути метаболизма (динамичное повышение ФПК). Учитывая полученные данные в первые сутки, можно сказать, что фаза реперфузии в коже имеет 2 этапа: первый – тканевой гипоксии, второй – аэробный. Это может быть связано с наличием

постреперфузионного тканевого отека [16], затрудняющего доставку кислорода к клеткам кожи. Поэтому требуется время для перевода клеток на аэробный обмен. Но к этому моменту клетки уже не способны метаболизировать кислород как раньше в связи с развитием в фазе ишемии дисфункции митохондрий и замедлением процессов синтеза АТФ. Это ведет к образованию активных форм кислорода и в последующем к некрозу клеток [15], подтвердившемуся хаотичными точечными зонами некроза кожи в настоящем исследовании.

На 3-и сут эксперимента комплексный показатель микроциркуляции (K_v) оставался на прежнем уровне за счет компенсаторного усиления механизмов регуляции микроциркуляции (σ) на 28% от показателей 1-х сут ($p \leq 0,05$) на фоне увеличения перфузии (M) на 64% ($p \leq 0,05$). Продолжающееся снижение ФПК в среднем на 14% ($p \leq 0,05$) при одновременном снижении на 13% ($p \leq 0,05$) потребления кислорода тканями (U) по сравнению с показателями первых суток указывало на превалирование анаэробного гликолиза, возможно за счет дисфункции митохондрий и гибели клеток кожи в результате реперфузионного повреждения.

К исходу 7-х сут наблюдения микроциркуляция (по показателю K_v) была ниже показателя у крыс в интактной группе в среднем на 80% ($p \leq 0,05$), что связано с нарушением механизмов регуляции сосудистого тонуса (σ снижена в среднем на 76%—от исходных данных, $p \leq 0,05$) на фоне повышенной перфузии (M превышал в среднем на 24% значение в исходном состоянии, $p \leq 0,05$). Интенсивность тканевого обмена продолжила снижаться (U был в среднем на 31% меньше по сравнению с показателями в интактной группе ($p \leq 0,05$), очевидно, за счет снижения аэробной составляющей метаболизма (ФПК был снижен в среднем на 33% от исходного ($p \leq 0,05$)). Представленные изменения свидетельствует о развитии деструктивных процессов в поврежденной ткани кожи, реализующихся в появлении кожных ран.

На 14-е сут исследования статистически значимых изменений показателей микроциркуляции (K_v , M , σ) и потребления кислорода тканями по сравнению с 7-ми сут нет. ФПК восстановился до исходных значений что в целом отражает восстановление жизнеспособных клеток и переход их на аэробный обмен.

Динамическое наблюдение через 28 сут после компрессионного повреждения мягких тканей голени у крыс установило, что поврежденные участки кожи замещены рубцом, в этой зоне микроциркуляция (по показателю K_v) снижена в среднем на 87% от

интактной группы ($p \leq 0,05$) (таблица 1). Вместе с тем, отмечается повторный подъем потребления кислорода (по показателю U) тканями кожи в среднем в 3,5 раза ($p \leq 0,05$); ФПК находится в пределах нормы (таблица 2). Выявленные особенности могут быть связаны с интенсивным синтезом коллагена по пути реакции гидроксирования пролина и лизина с использованием кислорода и образованием гидроксипролина и гидроксизина – аминокислот, входящих в структуру коллагена [17].

Таблица 1.

Показатели микроциркуляции в тканях кожи бедра у крысы в области компрессионного повреждения в результате механического сдавления в течение 7 ч с силой давления 10-12 кг/см² (Me (LQ;UQ))

Группы исследования	Сроки наблюдения после декомпрессии тканей	М, пф. ед.	σ , пф. ед.	K_v , %
Интактная, n=6		12,35 (10,85; 13,87)	2,28 (1,48; 4,38)	16,94 (12,7; 32,05)
Опытная (компрессионная травма) n= 30	Сразу после декомпрессии	5,89* (5,69; 12,19)	0,5* (0,36; 1,25)	7,85* (4,28; 16,9)
	3 ч	11,37 (9,86; 18,61)	5,75* (2,41; 7,71)	45,23* (19,61; 0,49)
	1 сут	10,03 (7,4; 13,35)	4,32* (1,32; 7,15)	33,24* (18,62; 54,48)
	3 сут	16,46* (15,3; 17,42)	5,53* (5,0; 6,31)	33,54* (30,2; 36,03)
	7 сут	15,29* (15,22; 18,87)	0,56* (0,47; 2,15)	3,35* (2,5; 7,88)
	14 сут	16,86* (13,94; 17,35)	0,51* (0,41; 0,62)	3,15* (2,36; 4,51)
	28 сут	15,74* (14,92; 16,19)	0,35* (0,32; 3,16)	2,16* (2,06; 22,96)

Примечание. * - $p \leq 0,05$ – различия с соответствующими показателями у интактных животных; K_v – коэффициент вариации; М – постоянная составляющая перфузии; σ – переменная составляющая перфузии; Me – медиана; LQ/UQ – верхний/нижний квартили; n – количество животных

Таблица 2.

Показатели метаболизма в тканях кожи бедра у крысы в области компрессионного повреждения в результате механического сдавления в течение 7 ч с силой давления 10-12 кг/см² (Ме (LQ;UQ))

Группы исследования	Сроки наблюдения после декомпрессии тканей	U, усл. ед.	ФПК, усл.ед.
Интактная, n=6		1,9 (1,4; 2,3)	0,686 (0,430; 0,733)
Опытная (компрессионная травма) n= 30	Сразу после декомпрессии	1,3* (1,2; 1,4)	0,567* (0,472; 0,595)
	3 ч	1,7* (1,0; 1,7)	0,468* (0,418; 0,479)
	1 сут	2,6 (1,1; 3,45)	0,721* (0,712; 0,851)
	3 сут	2** (0,3; 2,0)	0,621** (0,619; 0,752)
	7 сут	1,3* (0,5; 1,3)	0,454* (0,425; 0,461)
	14 сут	1,4 (1,2; 1,4)	0,663 (0,635; 0,706)
	28 сут	6,95* (5,15; 9,85)	0,698 (0,614; 0,736)

Примечание: * - $p \leq 0,05$ - различия с соответствующими показателями у интактных животных; ** - $p \leq 0,05$ - различия с соответствующими показателями у животных опытной группы в 1 сутки; U – удельное потребление кислорода тканями; ФПК – флюоресцентный показатель потребления кислорода; Ме – медиана; LQ/UQ – верхний/нижний квартили; n – количество животных.

Обсуждение

Данные, полученные *in vivo*, позволяют описать динамику патологического процесса, развивающегося в тканях кожи у крыс при экспериментальной компрессионной травме.

В посткомпрессионном периоде изменения микроциркуляции и метаболизма имеют волнообразный характер. Так, первое снижение микроциркуляции и метаболизма отмечается сразу после декомпрессии и отражает период ишемии, для которого характерно нарушение кровоснабжения, циркуляторная гипоксия, приводящая к истощению запасов кислорода и высокоэнергетических субстратов клетки, таких как АТФ и креатинфосфат (КФ) [14]. Первый пик улучшения микроциркуляции регистрировали через 3 ч после декомпрессии, он сохранялся в течение первых суток и отражает период реперфузии,

который в коже имеет два этапа (рисунок 2). Во время первого (тканевой гипоксии) восстанавливается микроциркуляция, в межтканевое пространство поступает кислород, но за счет постреперфузионного отека [15] не попадает в клетки. Во время второго этапа (аэробного) за счет насыщения межклеточного пространства кислородом, клетки переходят на аэробный путь, о чем свидетельствует ФПК, достигший исходных значений. Но в этот период клетки уже не способны метаболизировать кислород из-за повреждения митохондрий в период ишемии. В результате этого возникающий избыток кислорода метаболизируется клетками с образованием активным форм кислорода [14], которые вызывают окисление структурных компонентов и биохимических субстратов в клетке с развитием окислительного стресса [18]. Свободно-радикальное повреждение приводит к вторичным повреждениям эндотелия сосудов и нарушению микроциркуляции, которая увеличивает выраженность гипоксии тканей и снижает активность обменных процессов [19]. Далее начинается некроптоз клеток с развитием зон некроза кожи. Деструктивные изменения в ткани за счет ишемического-реперфузионного синдрома к 7-м сут достигают своего максимума, что на макроскопическом уровне приводит к отторжению участков сухого некроза и формированию кожных ран. Полученные данные позволяют утверждать, что отсроченное появление ран кожи при краш-синдроме является следствием травматической ишемии ткани и последующей реперфузии, в основе которой лежит нарушение микроциркуляции. На 14-е сут микроциркуляция незначительно ухудшилась, что свидетельствует о серьезном необратимом повреждении микроциркуляторного звена (рисунок 2 А,Б).

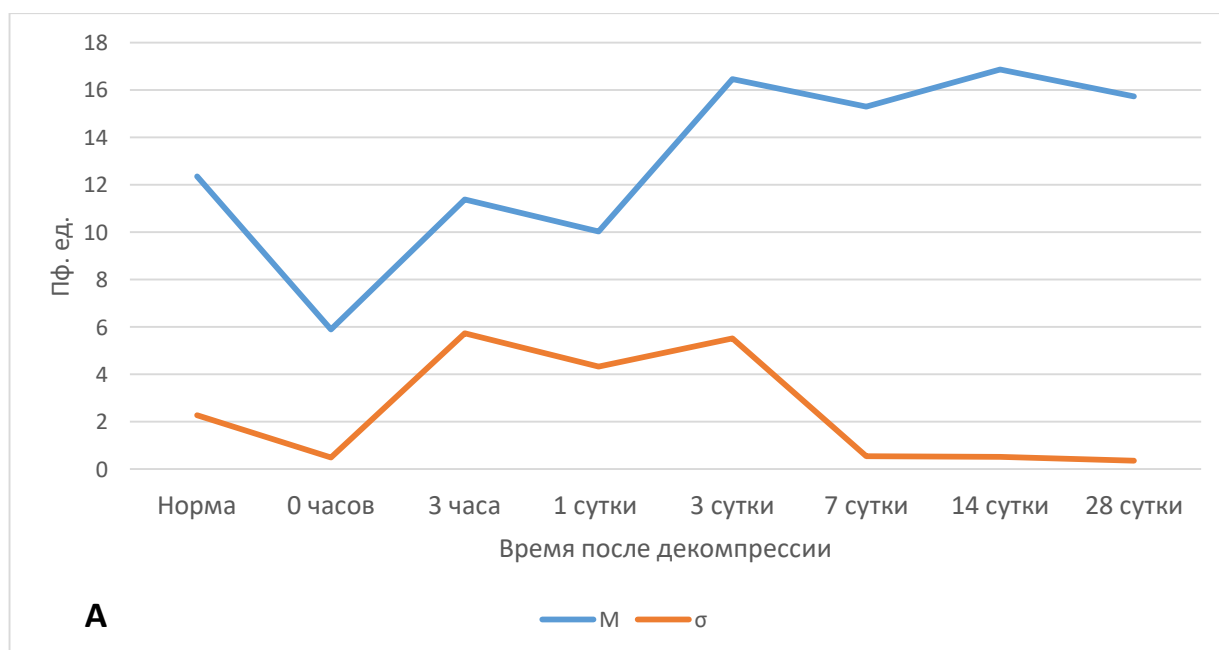




Рисунок 2. Динамика средних значений показателей микроциркуляции в тканях кожи бедра у крысы в области компрессионного повреждения в результате механического сдавления в течение 7 ч с силой 10-12 кг/см². А – значения М (постоянная составляющая перфузии) и σ (переменная составляющая перфузии); Б – значения Kv (коэффициент вариации)

При этом кислородопотребление тканями незначительно улучшилось, что свидетельствует о восстановлении оставшихся жизнеспособных клеток. Развитие пролиферативной фазы раневого процесса к 28-м сут эксперимента завершилось формированием рубца. Повторный подъем потребления кислорода тканями кожи в 3,5 раза вполне вероятно связано с синтезом коллагена для формирования рубца (рисунок 3).

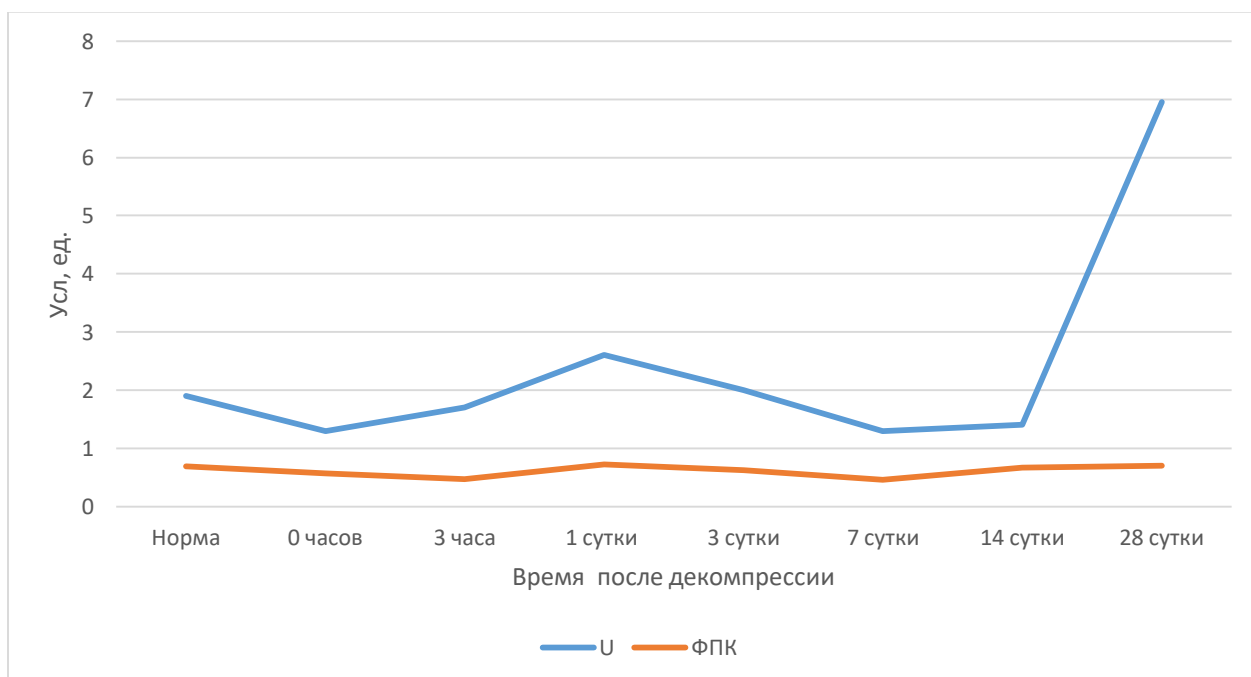


Рисунок 3. Динамика средних значений показателей метаболизма в тканях кожи бедра у крысы в области компрессионного повреждения в результате механического сдавления в течение 7 ч с силой давления 10-12 кг/см²

Заключение

Проведенное исследование показало, что на фоне изменения активности микроциркуляторного русла происходит нарушение тканевых метаболических процессов в области компрессии, что связано с развитием травматической ишемии и реперфузии. Наиболее значимые микроциркуляторные и метаболические изменения в коже в посткомпрессионном периоде происходили в период 3 ч – 7 сут. В первые сутки произошли процессы, направленные на восстановление жизнеспособности ткани за счет компенсаторных возможностей организма. К исходу 7-х сут развились деструктивные процессы, приводящие к образованию ран. В последующем происходили процессы пролиферации и рубцевания, обеспеченные восстановлением микроциркуляции и активации метаболической активности тканей кожи.

Таким образом, полученные данные позволили описать процессы повреждения и восстановления тканей кожи у экспериментальных животных в рамках микроциркуляторных и метаболических процессов. Это дает основание для применения данной методологии при оценке направленности патологического процесса при компрессионной травме тканей кожи и эффективности применяемых методов лечения. Перспективным направлением дальнейших исследований является изучение морфофункциональных изменений в коже, что необходимо для установления границ жизнеспособных тканей и клеточно-тканевого резерва регенерации кожи в посткомпрессионном периоде.

Литература

1. Шугаева К.Я., Магомедов М.А., Магомедов К.К., Шахбанов Р.К. Современные аспекты патогенеза синдрома длительного сдавления мягких тканей в клинике и эксперименте // Известия Дагестанского Государственного педагогического университета. Серия Естественные и точные науки. 2012; 2: 96-100. [Shugaeva K.Ya., Magomedov M.A., Magomedov K.K., Shahbanov R.K. Modern aspects of pathogenesis of the long-term compression of soft tissues in the clinic and experiment // News of the Dagestan State Pedagogical University. A series of natural and accurate sciences. 2012; 2: 96-100. [in Russian].
2. Genthon A., Wilcox S. R. Crush Syndrome: A Case Report and Review of the Literature // The Journal of Emergency Medicine/ 2014; 46(2), 313–319. DOI: 10.1016/j.jemermed.2013.08.052
3. Reis N.D., Better O.S. Mechanical muscle-crush injury and acute muscle-crush compartment syndrome: with special reference to earthquake casualties // J. Bone Joint Surg. Br. 2005; 87(4): 450–453. DOI: 10.1302/0301-620X.87B4.15334.
4. Османова А.А., Магомедов М.А., Гусейнов Т.С. Изменения микрогемоциркуляции в раннем посткомпрессионном периоде синдрома длительного сдавливания и коррекции инфузией перфторана // Журнал «Морфологические ведомости». Самара- 2010, №1- С.72-78. [Osmanova A.A., Magomedov M.A., Huseynov T.S. Changes in microhemocirculation in the early post-acceptance period of long-term squeezing syndrome and correction of infusion perfluoroan // Morphological Vedomost Magazine. Samara - 2010, №1-S.72-78. [in Russian]
5. Митиш В.А., Налбандян Р.Т., Исаков О.С., Сидоров С.В., Басаргин Д.Ю., Багаев В.Г., Коваленко М.И., Мединский П.В., Соков С.Л. Особенности оказания специализированной хирургической помощи пострадавшим при землетрясении в Непале // Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б.М. Костюченка. 2016; 3(4): 34-49. DOI: 10.25199/2408-9613-2016-3-4-34-49. [Mitisch V.A., Nalbandian R.T., Ishakov O.S., Sidorov S.V., Basargin D.Yu., Bagaev V.G., Kovalenko M.I., Medinsky P.V., Sokov S.L. Features of the provision of specialized surgical assistance to victims during an earthquake in Nepal // Wounds and wound infections. Magazine them. prof. B. M. Kostyuchenka. 2016; 3 (4): 34-49. DOI: 10.25199 / 2408-9613-2016-3-4-34-49. [in Russian].
6. Murata I., Kawanishi R., Inoue S., Iwata M., Kobayashi J., Inoue Y., Kanamoto I. A novel method to assess the severity and prognosis in crushsyndrome by assessment of skin damage in hairless rats //European Journal of Trauma and Emergency Surgery (2019) 45:1087–1095.
7. Иванов А.Н., Лагутина Д.Д., Гладкова Е.В., Матвеева О.В., Мамонова И.А., Шутров И.Е., Андропова Т.А., Ульянов В.Ю., Норкин И.А. Механизмы дистантного стимулирующего действия аутотрансплантации кожного лоскута при повреждении

периферического нерва // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2018; 104(11): 1313-1324. [Ivanov A.N., Lagutina D.D., Gladkova E.V., Matveeva O.V., Mamonova I.A., Sprots I.E., Andronova T.A., Ulyanov V.Yu., Norkin I.A. The mechanisms of distant stimulating action of autotransplantation of the skin flap during damage to the peripheral nerve // Russian Journal of Physiology. 2018; 104 (11): 1313-1324. [in Russian].

8 Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Юркевич Ю.В., Шперлинг И.А. Регенеративные эффекты регионарного применения мезенхимных стромальных клеток человека в геле гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме мягких тканей // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2018; 1: 75–83. DOI: 10.25016/2541-7487-2018-0-1-75-83. [Shupleov A.V., Schpeling N.V., Yurkevich Yu.V., Schpeling I.A. Regenerative effects of regional use of the mesenchymal stromal human cells in the hyaluronic acid gel with an experimental compression injury of soft tissues. Medico-biological and socio-psychological problems of safety in emergency situations. 2018; 1: 75-83. DOI: 10.25016 / 2541-7487-2018-0-1-75-83. [in Russian].

9. Сидоров В.В., Рыбаков Ю.Л., Гукасов В.М. Метод и приборная реализация контроля микроциркуляторно-тканевой системы *in vivo* // Медицина и высокие технологии. 2018; 3: 27–33. [Sidorov V.V., Rybakov Yu.L., Gukasov V.M. Method and instrumental implementation of control of the microcirculatory-fabric system *in vivo* // Medicine and high technology. 2018; 3: 27 - 33. [in Russian].

10 Лукина М.М., Ширманова М.В., Сергеева Т.Ф., Загайнова Е.В. Метаболический имиджинг в исследовании онкологических процессов (обзор) // Современные технологии в медицине. 2016; 4: 113–128. DOI: 10.17691/stm2016.8.4.16 [Lukina M.M., Shirmanova M.V., Sergeeva T.F., Zagainova E.V. Metabolic imaging in the study of oncological processes (review) // Modern technologies in medicine. 2016; 4: 113-128. DOI: 10.17691 / STM2016.8.4.16 [in Russian].

11. Georgakoudi I., Quinn K.P. Optical imaging using endogenous contrast to assess metabolic state // Ann Rev Biomed Eng. 2012; 14: 351–367, DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071811-150108.

12. Chance B., Schoener B., Oshino R., Itshak F., Nakase Y. Oxidation-reduction ratio studies of mitochondria in freeze-trapped samples. NADH and flavoprotein fluorescence signals. // J Biol Chem. 1979; 254(11): 4764–4771.

13. Ying W. NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences // Antioxid Redox Signal. 2008;10(2):179–206. Doi: 10.1089/ars.2007.1672.

14. Schaefer P.M., Kalinina S., Rueck A., Arnim C., Einem B. NADH Autofluorescence-A Marker on its Way to Boost Bioenergetic Research // *Cytometry A*. 2019; 95(1):34–46. Doi: 10.1002/cyto.a.23597

15. Небылицин Ю.С., Лазуко С.С., Кутько Е.А. Синдром ишемии-реперфузии нижних конечностей // *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2018; 17 (6):18-31. [Nebylitsin Yu.S., Lazuko S.S., Kutko E.A. Ischemia-reperfusion syndrome lower extremities // *Vestnik of Vitebsk State Medical University*. 2018; 17 (6):18-31 [in Russian].

16. Байтингер В.Ф., Селянинов К.В. Реперфузионный синдром: сосудистые проявления в кожно-фасциальных лоскутах // *Пластическая хирургия и эстетическая медицина*. 2021;(2):40-47. Doi: 10.17116/plast.hirurgia202102140 [Baitinger V.F., Selyaninov K.V. Reperfusion syndrome: vascular manifestations in leather-fascial flaps // *Plastic surgery and aesthetic medicine*. 2021; (2): 40-47. DOI: 10.17116 / Plast.hirurgia202102140 [in Russian].

17. Громова О.А., Торшин И.Ю., Томилова И.К., Гилельс А.В., Демидов В.И. Кальций и биосинтез коллагена: систематический анализ молекулярных механизмов воздействия // *Русский медицинский журнал*. 2016. № 15. С. 1009–1017. [Gromova O.A., Torshin I.Yu., Tomilova I.K., Gilels A.V., Demidov V.I. Calcium and collagen biosynthesis: systematic analysis of molecular mechanisms of action // *Russian Medical Journal*. 2016. № 15. P. 1009–1017. [in Russian].

18. Gielis J.F., Beckers P.A.J., Briedé J.J., Cos P., Van Schil P.E. Oxidative and nitrosative stress during pulmonary ischemia-reperfusion injury: from the lab to the OR // *Ann Transl Med*. 2017;5(6):131. doi: 10.21037/atm.2017.03.32

19. Жидков А.С., Корик В.Е., Трухан А.П., Жидков С.А., Пивоварчик С.Н., Терешко Д.Г. Прямая оксиметрия в диагностике экспериментального синдрома длительного сдавления // *Новости хирургии*. 2015; 23 (1): 12–16. [Gidkov A.S., Korik V.E., Trukhan A.P., Lykov S.A., Bivovarchik S.N., Tereshko D.G. Direct oximetry in the diagnosis of experimental syndrome of long-term compression // *Surgery news*. 2015; 23 (1): 12-16. [in Russian].