

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

Шперлинг И.А.¹, Шулепов А.В.¹, Одинцова И.А.², Шперлинг Н.В.¹, Шеладев И.В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации

195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая 4

e-mail: soash@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

194044, Санкт-Петербург, ул. Лебедева 6, лит. Ж

Аннотация

Обоснование. В хирургии повреждений стали широко использовать протективные и регенеративные свойства гелей гиалуроновой кислоты (ГК). Несмотря на это, эффективность раннего локального применения ГК на регенерацию скелетных мышц в области повреждения при продолжительной статической компрессии мягких тканей, в настоящее время, недостаточно изучена.

Цель. Изучить саногенетические механизмы ранней коррекции гиалуроновой кислотой местных повреждений мягких тканей при компрессионной травме.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 66 крысах-самцах линии Вистар, которые перед экспериментом были разделены на 3 группы: основную (n=28), группу сравнения (n=28) и интактную (n=10). Животные основной и группы сравнения подвергались механической компрессии мягких тканей бедра с силой сдавления 10-12 кг/см² и продолжительностью компрессии – 7 ч. Интактным животным компрессионная травма не наносилась. Через 3 ч животным основной группы локально в область повреждения вводили 1,75% раствор гиалуроновой кислоты в объеме 2,0 мл/кг, животные группы сравнения – локального лечения не получали. Через 3, 7, 14 и 28 сут после прекращения компрессии измеряли длину окружности бедра, биохимические показатели (миоглобин, калий), определяли состояние микроциркуляции и метаболизма мягких

тканей, проводили гистоморфологическое исследование скелетных мышц в области повреждения.

Результаты. В раннем (3-7 сут) и промежуточном (14 сут) посткомпрессионном периодах у животных после локального введения ГК отмечался менее выраженный отек мягких тканей бедра, наблюдалось снижение миоглобина на 20-69% ($p<0,05$) и калия на 34% ($p<0,05$), менее значимый прирост в крови уровня провоспалительных цитокинов, усиление перфузии и метаболизма в области компрессии (повышение коэффициента вариации показателя микроциркуляции (K_v) на 25-43% ($p<0,05$) и показателя эффективности кислородного обмена (ЭКО) – на 93-95% ($p<0,05$). В позднем компрессионном периоде (28 сут) после применения ГК регистрировалось увеличение профиля противовоспалительного ИЛ-10 (в 5,2 раза, $p<0,05$), усиление кислородного обмена (повышение ЭКО на 87% ($p<0,05$), менее выраженная посттравматическая атрофия скелетных мышц в области повреждения. Доля некротизированных мышечных волокон к исходу периода наблюдения была снижена на 30% ($p<0,05$), а площадь новообразованных элементов скелетной мышечной ткани увеличивалась почти в 1,5 раза ($p<0,05$) по сравнению с животными без локального лечения.

Заключение. Ранняя локальная коррекция повреждений мягких тканей гиалуроновой кислотой купирует микроциркуляторные и метаболические нарушения, что сдерживает прогрессирование провоспалительной реакции, ограничивает некроз тканей в области компрессии, способствует активному немиогенезу без образования выраженного соединительнотканного регенерата.

Ключевые слова: компрессионная травма, рабдомиолиз, гиалуроновая кислота, регенерация.

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

Shperling I.A.¹, Shulepov A.V.¹, Odintsova I.A.², Shperling N.V.¹, Sheladev I.V.¹

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

²*Military Medical Academy named after S.M. Kirov, Russian Defense Ministry
6, lit. G, Lebedeva str., 194044, Saint-Petersburg, Russia*

Annotation.

Background. In injury surgery, the protective and regenerative properties of hyaluronic acid (HA) gels have become widely used. Despite this, the effectiveness of early local application of HA on the regeneration of skeletal muscles in the area of damage during prolonged static compression of soft tissues has not been sufficiently studied at present.

Objective. To study the sanogenetic mechanisms of early correction of local soft tissue injuries with hyaluronic acid in compression injury.

Materials and methods. The study was performed on 66 male Wistar rats, which were divided into 3 groups before the experiment: the main group (n=28), the comparison group (n=28) and the intact group (n=10). Animals of the main and comparison groups were subjected to mechanical compression of the soft tissues of the thigh with a compression force of 10-12 kg/cm² and a compression duration of 7 hours. No compression injury was applied to intact animals. After 3 hours, the animals of the main group were injected locally with a 1.75% solution of hyaluronic acid in a volume of 2.0 ml/kg, the animals of the comparison group did not receive local treatment. 3, 7, 14, and 28 days after the end of compression, we measured the femoral circumference, biochemical parameters (myoglobin, potassium), determined the state of microcirculation and soft tissue metabolism, and performed a histomorphological study of skeletal muscles in the area of injury.

Results. In the early (3-7 days) and intermediate (14 days) post-compression periods in animals after local administration of HA, a less pronounced swelling of the soft tissues of the thigh was noted, a decrease in myoglobin by 20-69% ($p<0.05$) and potassium by 34% ($p<0.05$) was observed, a less significant increase in the level of pro-inflammatory cytokines in the blood, increased perfusion and metabolism in the area of compression (increase in the coefficient of variation of the microcirculation index (K_v) by 25-43% ($p<0.05$) and the index of oxygen exchange efficiency (OEE) - by 93-95% ($p<0.05$). In the late compression period (28 days) after the use of HA, an increase in the profile of anti-inflammatory IL-10 oxygen exchange (increased OEE by 87% ($p<0.05$), less pronounced post-traumatic atrophy of skeletal muscles in the area of damage. The proportion of necrotic muscle fibers by the end of the observation period was reduced by 30% ($p<0.05$), and the area of newly formed elements of skeletal muscle tissue increased by almost 1.5 times for ($p<0.05$) compared with animals without local treatment.

Conclusion. Early local correction of soft tissue damage with hyaluronic acid stops microcirculatory and metabolic disorders, which inhibits the progression of the pro-inflammatory reaction, limits tissue necrosis in the area of compression, promotes active neomyogenesis without the formation of a pronounced connective tissue regenerate.

Key words: compression injury, rhabdomyolysis, hyaluronic acid, regeneration.

Введение

Компрессионная травма (КТ, синдром длительного сдавления, краш-синдром, травматическая ишемия мышц) – патологический процесс, который развивается при продолжительном сдавлении большой массы мягких тканей, преимущественно конечностей, обломками разрушенных зданий, коммуникаций, земель, стволами деревьев, и встречается в условиях боевых действиях и чрезвычайных ситуациях в 5,5-20% случаев [1, 2].

Течение КТ характеризуется периодом компрессии (ишемии) и период восстановления кровотока в ранее ишемизированных тканях (реперфузии). При реперфузионном синдроме из области повреждения в кровь поступают продукты как прямого повреждения клеток (миоглобин), так и вещества, возникшие в результате ишемического повреждения (метаболиты анаэробного гликолиза, биологически активные вещества), которые вызывают повреждение мембран клеток, накоплению ионов водорода в тканях, активации неспецифичных лизосомальных протеиназ [3]. Вследствие этого, в области повреждения возникают вторичные повреждения и отсроченная гибель клеток, что приводит к увеличению области некроза и определяют выраженность локального воспалительного ответа [4].

Одним из перспективных подходов восстановительного лечения является уменьшение отсроченной ранней и поздней деструкции тканей и выраженности местной воспалительной реакции [5].

В последние годы в хирургии повреждений стали широко использовать протективные и регенеративные свойства гелей гиалуроновой кислоты, которая как основное вещество внеклеточного матрикса участвует в регуляции коллагенообразования и проявляет различные иммунологические свойства в зависимости от молекулярной массы [6, 7]. Высокомолекулярная гиалуроновая кислота (выше 1000 кДа) уменьшает выраженность деструктивных процессов в тканях, тормозит высвобождение провоспалительных биологически активных веществ, ослабляет течение воспаления, обеспечивает защиту тканей от повреждения и их регенерацию [8]. Имеются доказательства эффективности ГК в схеме ранней коррекции микроциркуляторных и метаболических нарушений мягких тканей при взрывной ране [9]. Вполне очевидно, что системный подход к пониманию механизмов патогенеза и фармакологических свойств регенеративно активных препаратов позволит расширить спектр терапевтических возможностей тканесохраняющих технологий при лечении последствий компрессионной травмы и их осложнений.

Цель исследования – изучить саногенетические механизмы ранней коррекции гиалуроновой кислотой местных повреждений мягких тканей при компрессионной травме.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 66 крысах-самцах линии Вистар массой 320 ± 20 г, возрастом 3,5-4,0 мес., полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область, Россия) и одобрено локальным Комитетом по этике ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (протокол № 13 от 22.06.2020 г.). Все экспериментальные животные проходили 14-дневный карантин со свободным доступом к пище, воде. Перед проведением исследования все крысы были разделены на 3 группы: основную ($n=28$), группу сравнения ($n=28$) и интактную ($n=10$). Животные основной и группы сравнения под наркозом (смесь золетила и ксилазина по 10 мг/кг массы животного каждого препарата внутримышечно) подвергались механической компрессии мягких тканей бедра с помощью металлических тисков по методике, описанной ранее [10]. Продолжительность компрессии составила 7 ч, сила сдавления – 10-12 кг/см². Противоположная тазовая конечность сдавлению не подвергалась. Интактным животным компрессионная травма не наносилась.

В ранние сроки после прекращения компрессии (через 3 ч) животным основной группы локально в область повреждения в толщу мышц веерным способом вводили 1,75% раствор гиалуроновой кислоты в объеме 2,0 мл/кг, который готовили путем разбавления препарата Гиалифт 3,5 (Испания) водой для инъекций в соотношении 1:1; животным группы сравнения – локальное лечение не проводилось. Препарат Гиалифт 3,5 содержит нешпигую нестабилизированную гиалуроновую кислоту, имеющую преимущественно высокую молекулярную массу.

Исследования проводили через 3, 7, 14 и 28 сут после прекращения компрессии конечности, что соответствовало следующим посткомпрессионным периодам: раннему (3-7 сут), промежуточному (14 сут) и позднему (28 сут). Для оценки выраженности отека поврежденной тазовой конечности в ранние сроки и мышечной атрофии в позднем посткомпрессионном периоде с помощью сантиметровой ленты измеряли длину окружности бедра в его средней трети [11]. Значения выражали индексом отека/атрофии, который рассчитывали как отношение длины окружности травмированного бедра к длине окружности бедра неповрежденной конечности.

Выраженность рабдомиолиза оценивали по динамике содержания миоглобина и калия в сыворотке крови. Концентрацию миоглобина (нг/мл) измеряли методом

твердофазного ИФА с применением двух типов моноклональных антител (АО «Вектор-Бест», Россия) на автоматическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology, США) [12]. Показано, что по аминокислотному составу крысиный и человеческий миоглобин являются гомологами, поэтому в настоящем исследовании использовали набор АО «Вектор-Бест» (Россия). Концентрацию калия определяли турбодиметрическим методом с использованием набора Калий-Ольвекс (ООО Ольвекс Диагностикум, Россия).

Состояние микроциркуляции и метаболизма в скелетных мышцах области бедра задней (тазовой) конечности оценивали с помощью комплекса «ЛАКК-М» (НПП «ЛАЗМА», Россия). Под наркозом проводили разрез кожи в области компрессии и устанавливали измерительный датчик прибора на мышцы бедра. Продолжительность измерения – 10 мин, глубина зондирования объема мышечной ткани – 1,0-1,5 мм. В режиме работы прибора «Лазерная доплеровская флоуметрия» (ЛДФ) измеряли амплитуду показателей M и σ (постоянная и переменная составляющие показателя микроциркуляции), рассчитывали коэффициент вариации (K_v , %) по формуле: $K_v = \sigma/M \times 100\%$. Увеличение/ уменьшение величины K_v указывает соответственно на улучшение/ ухудшение состояния микроциркуляции. В режиме прибора «Оптическая тканевая оксиметрия» (ОТО) измеряли показатель сатурации кислородом крови в микроциркуляторном русле зондируемой биоткани (SO_2 , %), вычисляли индекс удельного потребления кислорода в ткани (U , усл.ед.). Интенсивность метаболизма скелетных мышц в области повреждения измеряли в режиме «Лазерная флуоресцентная диагностика» (ЛФД) и определяли значение амплитуды спектров флуоресценции восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида ($A_{НАДН}$, усл.ед.) и окисленной формы флавинадениндинуклеотида ($A_{ФАД}$, усл.ед.), с последующим расчетом флуоресцентного показателя потребления кислорода (ФПК, отн.ед.) по формуле: $ФПК = A_{НАДН} / A_{ФАД}$. Основная масса НАДН образуется при гликолизе, а ФАД — при окислительном фосфорилировании, низкие значения ФПК указывает на высокую метаболическую активность клетки и преобладание гликолитического пути над окислительным фосфорилированием. Комплексное состояние микроциркуляции и метаболизма скелетных мышц оценивали с помощью показателя эффективности кислородного обмена (ЭКО, отн.ед.) и вычисляли как $ЭКО = M \times U \times ФПК$. Показатели ЭКО и ФПК – наиболее информативные показатели, которые характеризуют взаимосвязь состояния микроциркуляции в тканях с интенсивностью обмена веществ в них.

Для гистологического исследования фрагменты мышцы размерами 1 см^3 фиксировали в 10% забуференном растворе формалина, затем обезживали 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. Оценивали диаметр «старых» мышечных волокон (мкм), долю некротизированных мышечных волокон (%), диаметр новообразованных мышечных трубок (мкм), площадь, занятую новообразованными элементами скелетной мышечной ткани (%) в мышечно-соединительно-тканном регенерате с использованием программы Image J (программа с открытым исходным кодом без лицензионных ограничений). Фотографирование макропрепаратов производили с помощью камеры Canon BJC-1000 (Япония).

Статистический анализ результатов исследования осуществляли с использованием программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Определение типа распределения данных использовали критерий Шапиро-Уилка. Полученные переменные в исследуемых выборках были представлены в виде медианы (Me) с 1-м и 3-м квартилями [Q_{25} ; Q_{75}]. Для определения статистической значимости различий ($p < 0,05$) между двумя сравниваемыми выборками использовали критерий Манна—Уитни.

Результаты

Внешний осмотр скелетных мышц бедра показал, что продолжительная статическая компрессия тазовой конечности приводила к значительным повреждением скелетных мышц. Через 3-7 сут после прекращения сдавления мягких тканей в толще скелетных мышц наблюдались поверхностно и глубоко расположенные очаги некроза с тенденцией к слиянию с образованием значительных зон разрушения мышечной ткани (Рис. 1Б). При осмотре поврежденные скелетные мышцы были цианотичны, увеличены в размерах по сравнению с контралатеральной конечностью, отмечалась их повышенная поверхностная кровоточивость. К 14 сут посткомпрессионного периода скелетные мышцы имели цианотичный оттенок, активные движения в поврежденных конечностях отсутствовали или были минимальной амплитуды. При пальпации скелетные мышцы бедра плотные, размеры их соответствовали размерам мышц на контралатеральной тазовой конечности (Рис. 1В). К исходу периода наблюдения (28 сут) скелетные мышцы бедра бледно-розовые, без признаков цианоза и отека. На поверхности мышц выраженный сосудистый рисунок. Скелетные мышцы бедра атрофичны, рубцово-плотные, с несколько уменьшенными размерами относительно противоположной тазовой конечности (Рис. 1Г).

При локальном введении в область компрессии геля гиалуроновой кислоты в раннем посткомпрессионном периоде (7 сут) отмечался умеренный отек с единичными очагами некроза в скелетных мышцах. Поврежденные мышцы голени умеренно отечны с цианотичным оттенком (Рис. 1Д). Через 14 сут после прекращения компрессии поверхность скелетных мышц имела бледно-розовый цвет с участками умеренного

цианоза. После удаления кожи отмечалась повышенная кровоточивость из поверхностных сосудов скелетных мышц (Рис. 1Е). Эластичные свойства мышечной ткани снижены за счет уплотнений на поверхности и в толще мышцы. В поздний посткомпрессионный период (через 28 сут) скелетные мышцы бледно-розовые, отека и цианоза не выявлено (Рис. 1Ж). При пальпации скелетные мышцы бедра гипотрофичны, диффузно плотные, эластичность снижена.

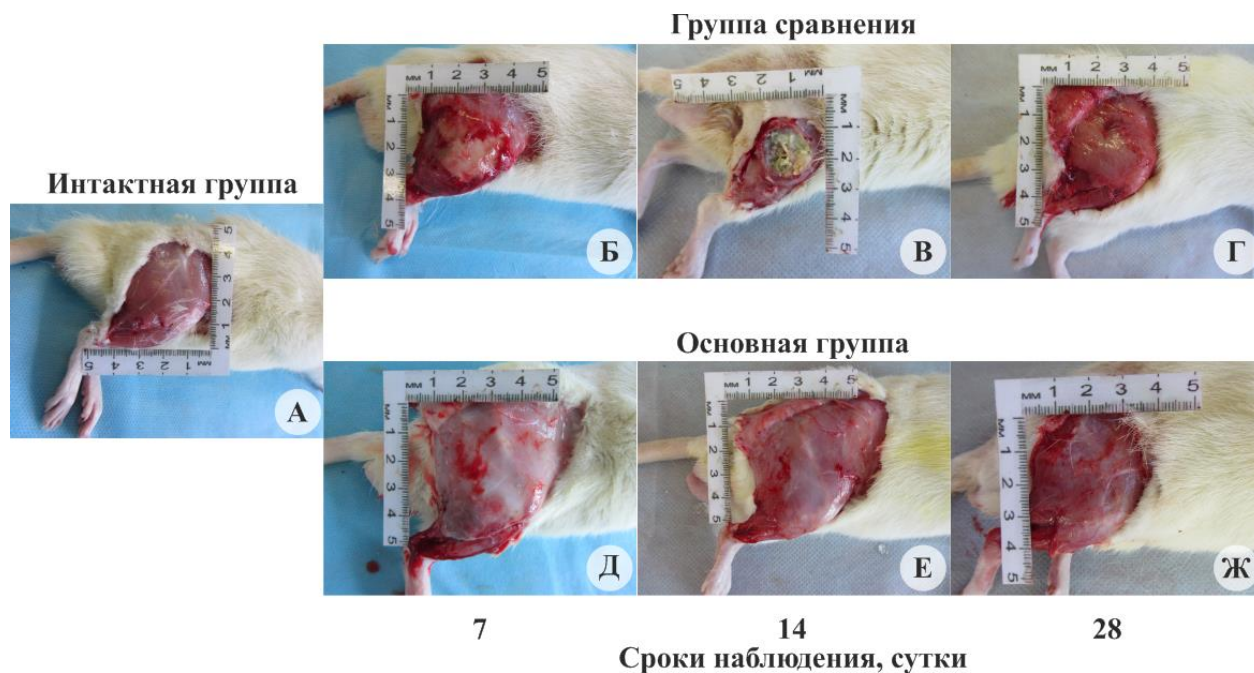


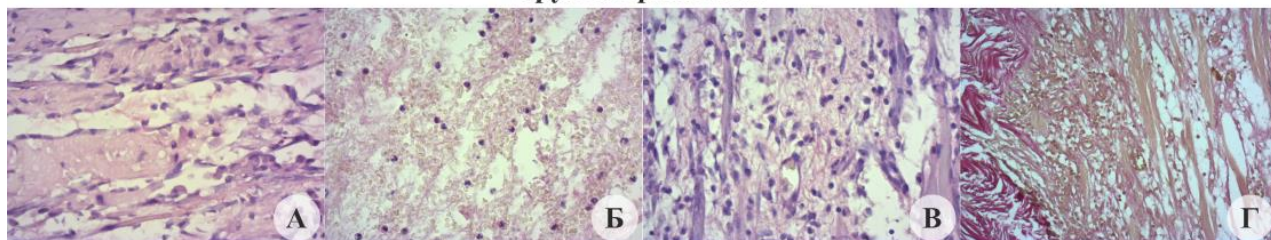
Рисунок 1 – Внешний вид тазовой конечности крысы после раннего локального применения гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме. А – до нанесения травмы; Б, В, Г – через 7, 14, 28 сут после нанесения компрессионной травмы (группа сравнения); Д, Е, Ж – через 7, 14, 28 сут после локального введения гиалуроновой кислоты (основная группа).

Гистоморфологические изменения в скелетной мышце на третьи сутки после прекращения компрессии (группа сравнения) характеризовались выраженными некротическими изменениями мышечных волокон, которые заключались в разрушении сарколеммы, дезинтеграции и лизисе миофибрилл, вакуолизации саркоплазмы (Рис. 2А). В некоторых участках отмечается выраженный отек межмышечной соединительной ткани. Некротизированные мышечные волокна составляют $66,06 \pm 3,69\%$ от общего числа мышечных волокон. Среди гибнущих и реактивно измененных мышечных волокон встречается большое количество нейтрофильных гранулоцитов и мононуклеарных фагоцитов (макрофагов) (Рис. 2Б). В периферических участках препарата встречаются мышечные волокна без признаков повреждения. На 7-е сут в разных участках препарата обнаруживаются единичные новообразованные короткие миосимпласты, содержащие

центральнорасположенные 2-3-4 ядра. При этом доля некротизированных мышечных волокон еще достаточно велика и составляет $62,66 \pm 2,97\%$. На 14-е сут существенно возрастает количество новообразованных миосимпластических структур. Появление мышечных элементов, находящихся на разных стадиях миогистогенеза, свидетельствует о внутридифферонной гетероморфии скелетной мышечной ткани на данном сроке наблюдения (Рис. 2В). Отражением междифферонной гетероморфии является обнаружение в грануляционной ткани не только нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов, но и фибробластов, синтезирующих компоненты межклеточного вещества. Формируется мышечно-соединительнотканый регенерат, на долю мышечной ткани в нем приходится $23,56 \pm 1,24\%$. На 28-е сут доля некротизированных мышечных волокон снижается, но продолжает оставаться на достаточно высоком уровне, составляя $48,94 \pm 3,19\%$. Деструктивные мышечные волокна занимают периферическую часть препарата. В его центральных участках сформирован мышечно-соединительнотканый регенерат, в котором наряду с тканевыми элементами соединительной ткани находятся новообразованные мышечные симпласты, среди которых преобладают мышечные трубки и молодые мышечные волокна (Рис. 2Г).

Процессы миогистогенеза в эксперименте с введением ГК происходят стереотипно и по известной схеме: некроз – прогистогенез (воспалительная реакция) – регенерационный миогистогенез с образованием симпластических структур (Рис. 2Д-З).

Группа сравнения



Основная группа

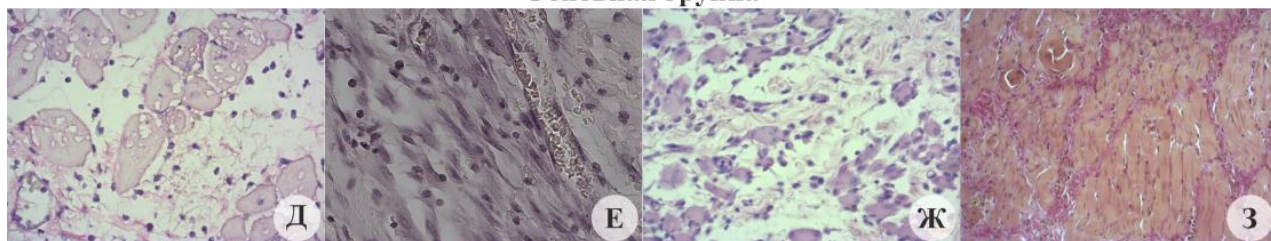


Рисунок 2 – Светооптическая характеристика скелетных мышц бедра крыс области сдавления после раннего локального введения 0,9% раствора натрия хлорида (группа сравнения) и геля гиалуроновой кислоты (основная группа) при экспериментальной компрессионной травме: А – некроз мышечных волокон, 3 сут. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.400; Б – нейтрофильные лейкоциты и мононуклеарные фагоциты в зоне травмы,

3 сут. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.400; В – формирование мышечных трубок и миосимпластов в регенерате, 14 сут. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.400; Г – мышечно-соединительнотканый регенерат, 28 сут. Окраска по методу Вейгерта -ван Гизона. Ув.200; Д – некротизированные мышечные волокна с вакуолизированной саркоплазмой, межмышечный отек, 3 сут. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.400; Е – формирование мышечно-соединительнотканного регенерата и его васкуляризация, 7 сут. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.400; Ж – мышечные симпласты в составе мышечно-соединительнотканного регенерата, 14 сут. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.400; З – мышечно-соединительнотканый регенерат, 28 сут. Окраска по методу Вейгерта - ван Гизона. Ув.200;

Сравнительная оценка количественных морфометрических показателей показала, что средний диаметр «старых» мышечных волокон на изученных сроках исследования практически совпадает в обеих экспериментальных группах и составляет на 3-и сут соответственно $355,35 \pm 8,67$ (307,29; 399,18) и $356,36 \pm 8,80$ (302,55; 399,18) мкм; на 7-е сут он несколько снижается, составляя $322,14 \pm 8,24$ (291,23; 365,53) и $323,20 \pm 8,21$ (299,43; 365,53) мкм соответственно; на 14-е сут – $335,34 \pm 7,24$ (300,69; 372,36) и $336,05 \pm 7,29$ (300,69; 374,80) мкм соответственно, а на 28-е сут – $342,61 \pm 7,63$ (300,84; 383,41) и $340,61 \pm 8,19$ (301,51; 384,08) мкм.

Доля некротизированных мышечных волокон (%) в группе животных без лечения держался примерно на одном уровне на 3-и и 7-е сут ($66,06 \pm 3,69$ (50,00; 79,00)% и $62,66 \pm 2,97$ (51,00; 75,50)%). В дальнейшем (на 14 и 28 сут) этот показатель снижался до $49,66 \pm 2,07$ (42,50; 56,50)% и регистрировался на этом уровне вплоть до 28 сут эксперимента, составляя на 28-е сут $48,94 \pm 3,19$ (33,50; 63,50)%. В эксперименте с локальным введением гиалуроновой кислоты на 28-е сут этот показатель снижался по отношению к животным из группы сравнения почти на 30%, составляя $32,81 \pm 2,15$ (23,00; 41,00)%.

Диаметр новообразованных мышечных трубок, характеризующий одну из сторон регенерационного миогистогенеза, при КТ без лечения на 7-е сут составлял $99,64 \pm 1,52$ (94,47; 102,83) мкм, на 14-е сут – $142,04 \pm 3,72$ (127,33; 158,02) мкм, а на 28-е сутки – $116,37 \pm 1,99$ (110,14; 122,48) мкм. В эксперименте с локальным применением ГК на 7-е сут этот показатель был аналогичен значениям из группы сравнения ($100,61 \pm 1,48$ (94,62; 104,26) мкм, на 14-е и 28-е сут после введения ГК выявлена та же динамика – $142,09 \pm 3,71$ (124,53; 158,44) и $121,05 \pm 3,86$ (109,12; 125,96) мкм соответственно.

Оценивая мышечно-соединительнотканый регенерат, следует отметить, что площадь, занятая новообразованными элементами скелетной мышечной ткани на 28-е сутки в опыте с гиалуроновой кислотой, увеличилась почти в 1,5 раза ($p<0,05$) по сравнению с группой сравнения. На рисунке 3 приведена динамика соотношения мышечной ткани и соединительной ткани в регенерате у животных двух серий эксперимента. Результаты свидетельствуют о значительном преобладании соединительной ткани над скелетной мышечной тканью на всех сроках наблюдения.

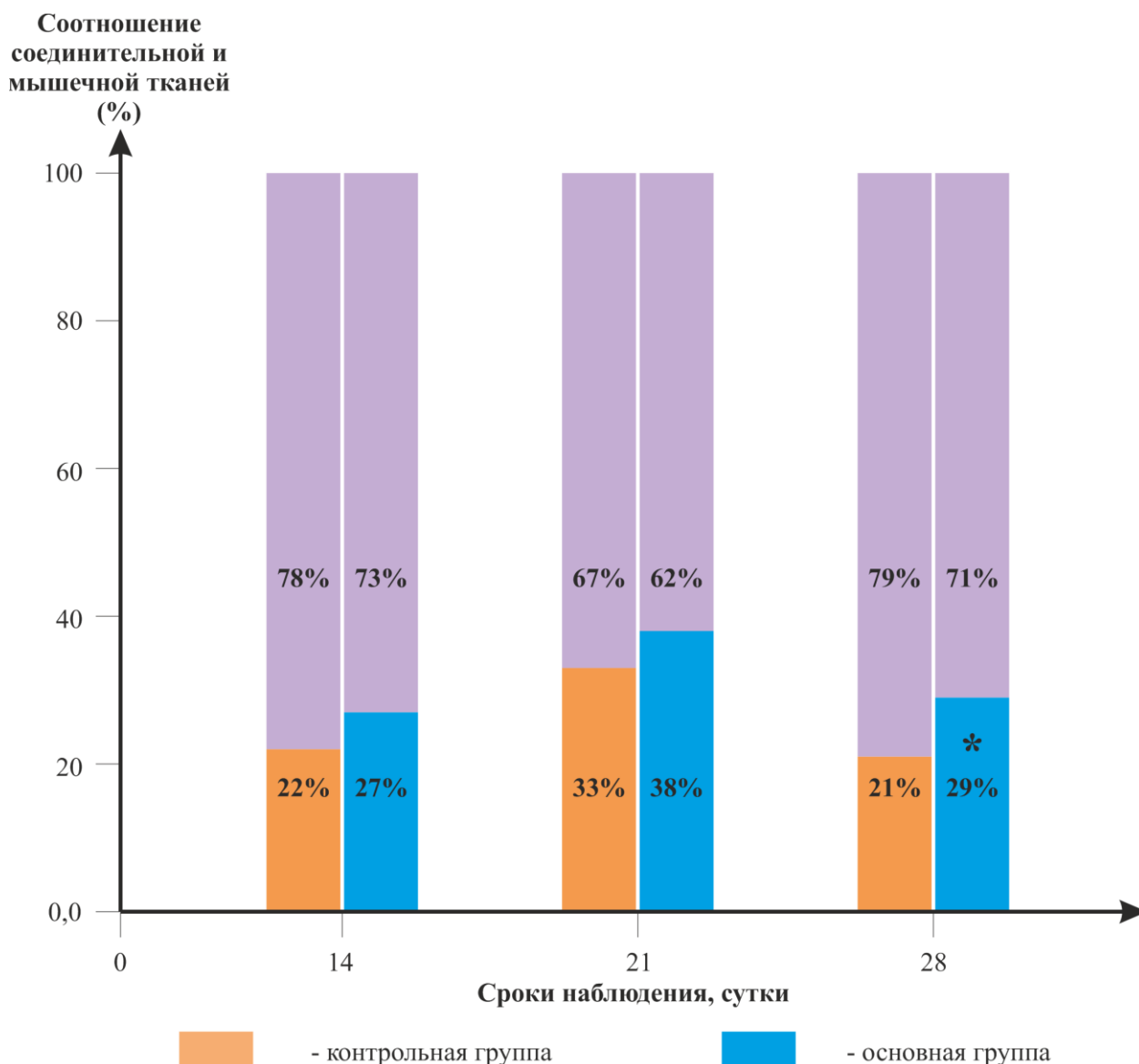


Рисунок 3 – Соотношение соединительной и мышечной тканей в регенерате (нижняя часть столбцов – доля мышечной ткани, верхняя – доля соединительной ткани).

Примечание: * - достоверное отличие основной группы от группы сравнения, при $p<0,05$

Структурные гистоморфологические изменения в тканях находили свое отражение в динамике отека мягких тканей по результатам измерения длины окружности бедра. Через 3-7 сут после прекращения компрессии у животных без лечения (группа сравнения)

регистрировался выраженный отек поврежденной тазовой конечности с увеличением длины окружности бедра на 18-20% ($p<0,05$) относительно показателей у интактных животных. В дальнейшем, отек снижался, индекс отека/атрофии к 14 сут соответствовали значению у интактных крыс. В позднем посткомпрессионном периоде (14-28 сут) длина окружности бедра сдавленной конечности по сравнению с её значением контралатеральной стороне уменьшилась на 25,8% ($p<0,05$), что свидетельствовало о посттравматической атрофии.

Локальное применение геля гиалуроновой кислоты (основная группа) способствовало уменьшению отека мягких тканей бедра поврежденной тазовой конечности в раннем посттравматическом периоде на 5,0-5,9% ($p<0,05$) по отношению к значениям у животных из группы сравнения. В последующем, длина окружности бедра сдавленной конечности снижалась и к 14 сут была в пределах значений у интактных животных. Достоверных различий между группами животных, которым локально вводили гель гиалуроновой кислоты и без лечения, в эти сроки не наблюдалось. В поздний посткомпрессионный период (28 сут после устранения компрессии) длина окружности бедра поврежденной тазовой конечности после раннего локального введения гиалуроновой кислоты была увеличена на 13,3% ($p<0,05$) по сравнению с животными без лечения, что свидетельствовало о менее выраженной атрофии скелетных мышц конечности (Рис. 4).

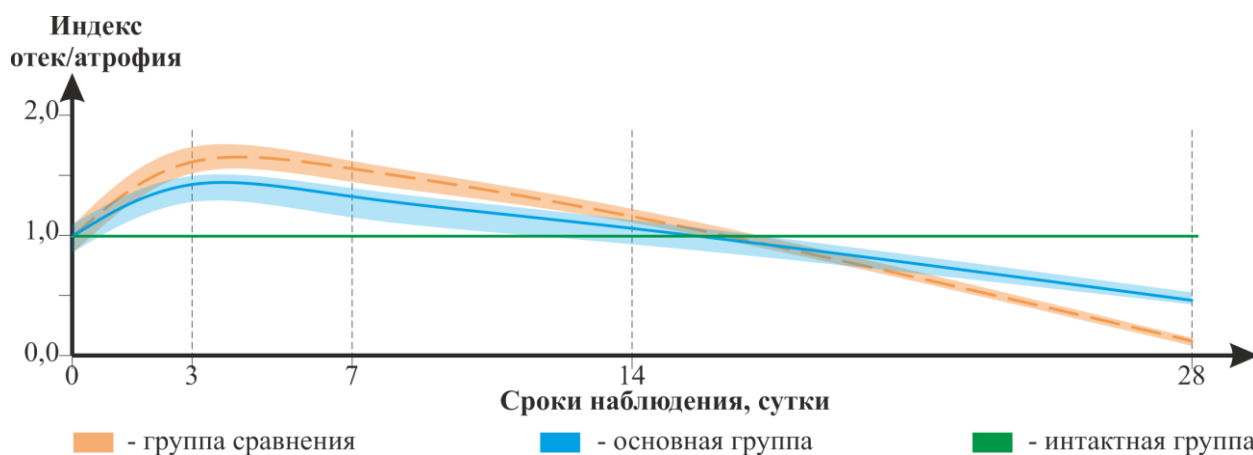


Рисунок 4 – Индекс отек/атрофия мягких тканей травмированной конечности крыс при локальном введении в область сдавления геля гиалуроновой кислоты.

Продолжительная компрессия бедра задней конечности крыс приводила к повреждению мягких тканей, преимущественно скелетных мышц, и повышению в крови продуктов рабдомиолиза (миоглобин, калий). Содержание миоглобина в сыворотке крови достигало максимальных значений в ранний посткомпрессионный период (3-7 сут), что соответствовало активной фазе воспаления, в 11,5-12,5 раз ($p<0,05$) превышая его

концентрацию у интактных животных. Уровень калия на 3 сут после прекращения компрессии был повышен на 83% ($p<0,05$) по сравнению с его значением у нетравмированных животных. Стихание локального воспалительного процесса способствовало умеренному снижению сывороточного миоглобина, хотя его уровень к исходу периода наблюдения (28 сут) был еще достаточно высоким, в 4,7 раза ($p<0,05$) больше, чем у нетравмированных животных. Восстановление концентрации калия в крови до значений у интактных крыс происходило быстрее и наблюдалось уже с 7 сут, что свидетельствовало о важности данного элемента для поддержания гомеостаза организма.

Применение геля гиалуроновой кислоты через 3 ч после компрессии способствовало снижению содержания миоглобина в сыворотке крови на 22-36% ($p<0,05$) и калия на 33% ($p<0,05$) в раннем и промежуточном посткомпрессионном периодах (3-14 сут) по сравнению с животными без лечения (Рис. 5).

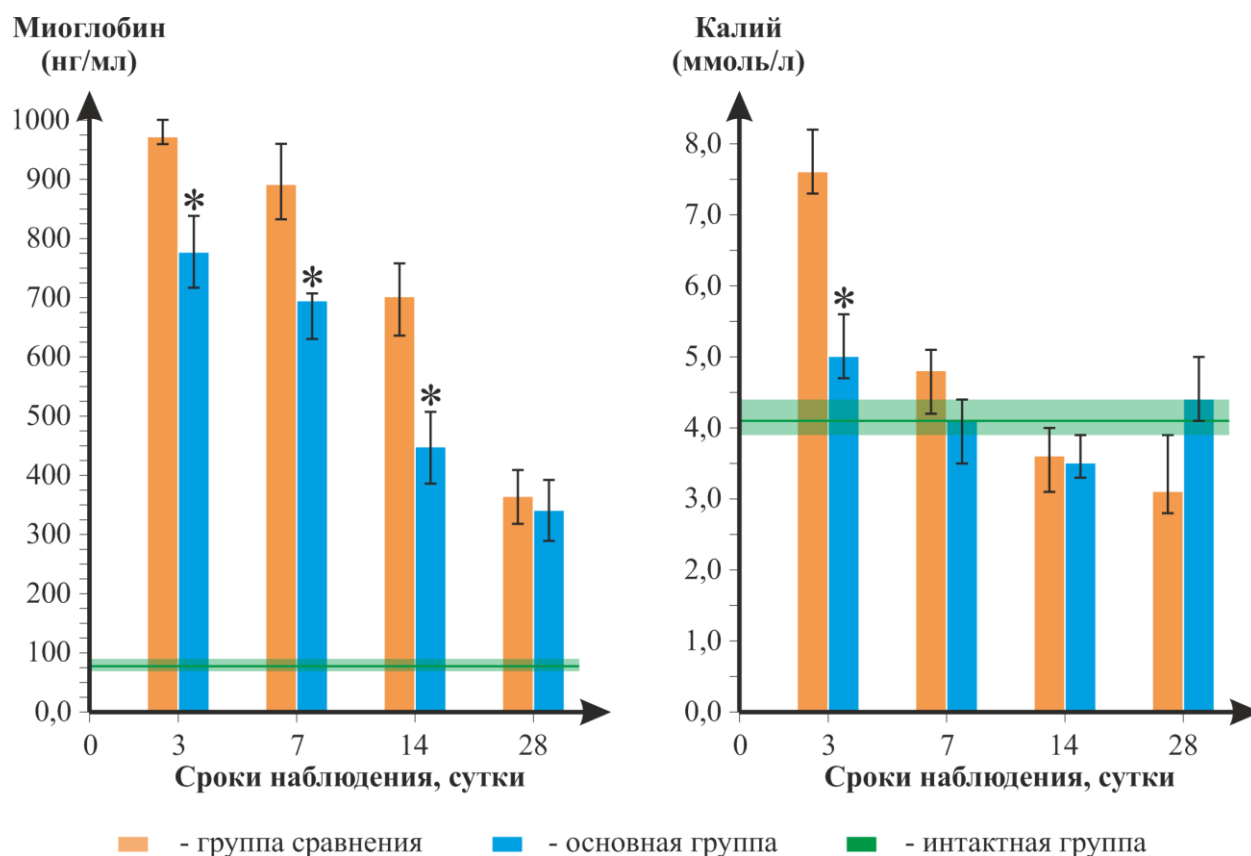


Рисунок 5 – Содержание миоглобина (нг/мл) и калия (ммоль/л) в сыворотке крови травмированных крыс при локальном введении в область сдавления мягких тканей геля гиалуроновой кислоты, Me [Q₂₅; Q₇₅].

Примечание: * - достоверное отличие основной группы от группы сравнения, при $p<0,05$

Значительные повреждения мягких тканей конечности при компрессионной травме приводили к развитию раннего системного воспалительного ответа, который

характеризовался выбросом в кровь из очага повреждения сигнальных или провоспалительных цитокинов. В результате исследования выявлено повышение содержания провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α) в сыворотке крови во все сроки наблюдения, с максимальным подъемом уровня IL-1 β в 6,3-7,1 раза ($p<0,05$) и TNF- α в 2,7-3,6 раза ($p<0,05$) относительно его содержания у интактных животных в раннем посткомпрессионном периоде (3-7 сут) (Рис. 6).

Локальное введение в область компрессии мягких тканей конечности гиалуроновой кислоты сопровождалось в ранний посттравматический период менее значимым приростом в крови уровня провоспалительных цитокинов. Через 3 сут и 7 сут после устранения компрессии содержание в сыворотке крови IL-1 β было на 40-43% ($p<0,05$) ниже значений у травмированных животных без лечения. Содержание TNF- α в сыворотке крови крыс, получавших локально гиалуроновую кислоту, через 3 и 7 сут после прекращения сдавления было снижено относительно крыс группы сравнения (без лечения) на 36% ($p<0,05$) и 31% ($p<0,05$), превышая, однако, в 1,7-2,5 раза ($p<0,05$) показатель в интактной группе. В более поздние сроки наблюдения существенного влияния гиалуроновой кислоты на концентрацию циркулирующих цитокинов крови не отмечалось.

В отличие от профиля исследуемых циркулирующих провоспалительных цитокинов содержание противовоспалительного цитокина IL-10 в ответ на компрессионное воздействие повышалось не ранее промежуточного посткомпрессионного периода. На 14 сут уровень IL-10 сыворотки крови крыс был повышен в 6,1 раза ($p<0,05$), а к исходу периода наблюдения (28 сут) в 5,2 раза ($p<0,05$) относительно интактных животных.

После внутримышечного введения в область повреждения гиалуроновой кислоты через 3-7 сут наблюдалось умеренное повышение в крови уровня IL-10 (в 2,8-2,9 раза, $p<0,05$) по сравнению с содержанием циркулирующего цитокина у нетравмированных животных. В последующие сроки исследования (через 14-28 сут после травмы) содержание IL-10 в сыворотке крови оставалось в тех же пределах, на 33-36% ($p<0,05$) ниже значений, установленных у животных без лечения. Локальное введения гиалуроновой кислоты позволяет ослабить формирование системного воспалительного ответа, особенно в раннем посткомпрессионном периоде.

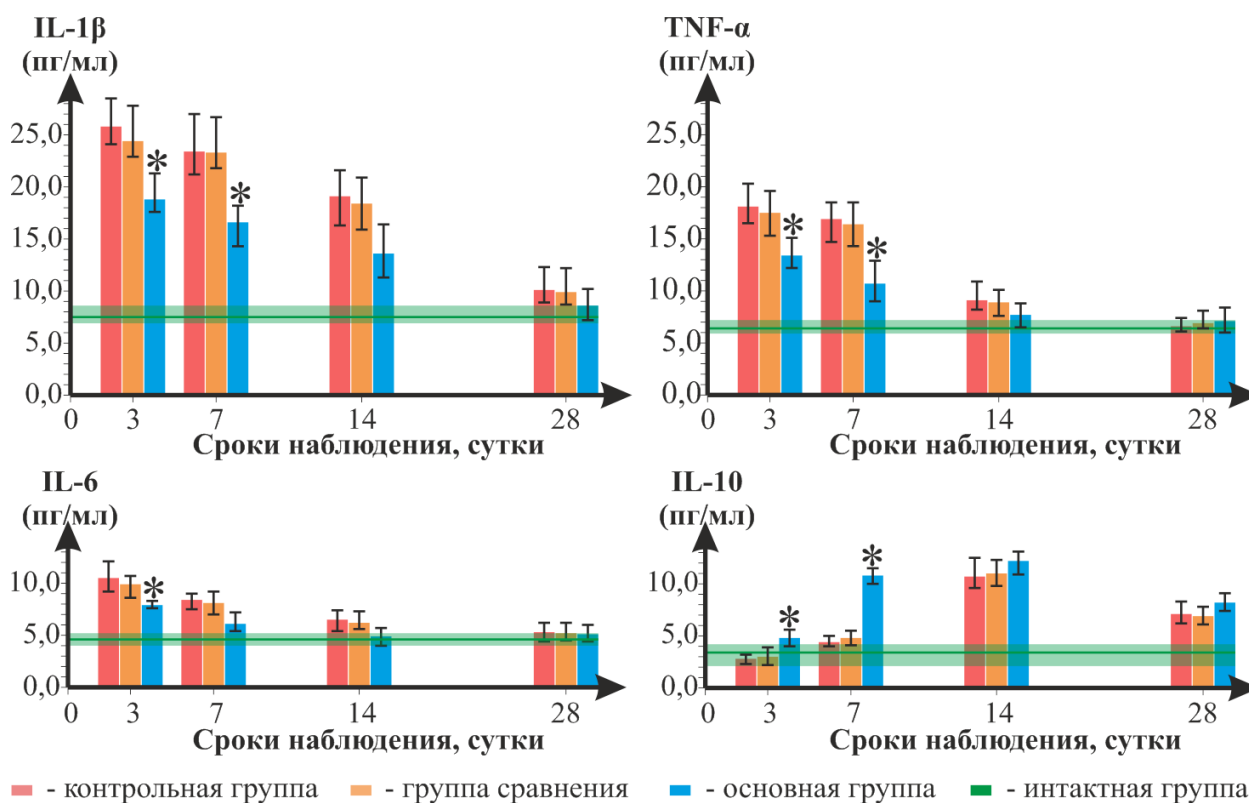


Рисунок 6 – Содержание провоспалительных (IL-1 β , TNF- α , IL-6) и противовоспалительных (IL-10) цитокинов в сыворотке крови крыс при локальном внутримышечном введении геля гиалуроновой кислоты в область статической компрессии мягких тканей конечности, Me [Q₂₅; Q₇₅].

Примечание: * - достоверное отличие основной группы от группы сравнения, при $p < 0,05$

При компрессионной травме в области повреждения наблюдались микроциркуляторные и метаболические расстройства (Рис. 7). Так, коэффициент K_v во все сроки наблюдения был снижен на 35-49% ($p < 0,05$) относительно интактных крыс, с минимальными значениями на 3-7 сут после травмы. Нарушение локального кровотока в поврежденных мышцах приводило к снижению потребления кислорода тканями, показатель U вначале (3-7 сут) снижался в 2,8-2,9 раза ($p < 0,05$), а затем, к 28 сут, незначительно повышался (в 2,2 раза, $p < 0,05$) по сравнению с интактными животными, что свидетельствовало о высокой концентрации в крови неутилизованного тканями кислорода. Низкий уровень потребления кислорода мягкими тканями приводил к нарушению окислительных процессов в них. Показатель ФПК на 3 сут повышался на 90,1% ($p < 0,05$) относительно значений у интактных животных, с последующим восстановлением на 7-28 сут. Зафиксированы изменения комплексного показателя ЭКО, который был максимально снижен к исходу 7 сут в 10,7 раз ($p < 0,05$) по сравнению с животными без травмы. Возможно, повышение интенсивности метаболических процессов

в мягких тканях области повреждения в ранние сроки после прекращения компрессии (3-7 сут) были обусловлены активацией анаэробного обмена с использованием энергетических ресурсов (гликоген), находящихся в сохраненных мышечных волокнах. Истощение этих запасов приводило к снижению окислительных процессов в тканях на фоне низкого потребления кислорода клетками.

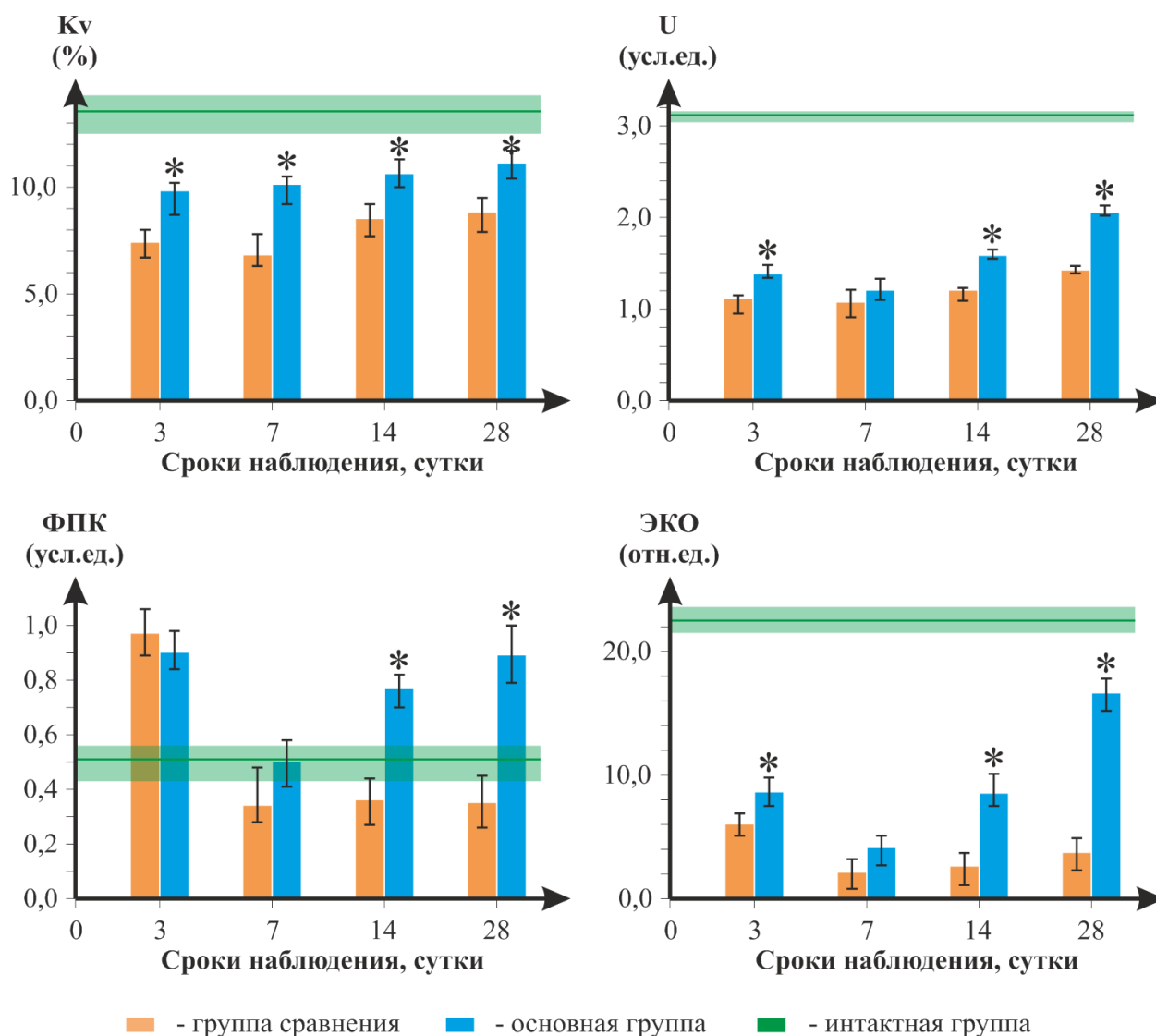


Рисунок 7 – Показатели микроциркуляции и метаболизма в мягких тканях бедра крыс после локального введения гиалуроновой кислоты в разных режимах при экспериментальной компрессионной травме, Ме [Q₂₅; Q₇₅].

Примечание: * - достоверное отличие основной группы от группы сравнения, при $p < 0,05$

Локальное введение ГК в область повреждения способствовало улучшению перфузии тканей. Показатель K_v в течение всего периода наблюдения был выше значений у животных без лечения (группа сравнения). Значительное повышение микрокровотока наблюдалось в раннем посткомпрессионном периоде (3-7 сут) и составляло на 32-49%

($p < 0,05$) выше показателя K_v в группе сравнения. Улучшение микрокровотока в области повреждения способствовало повышению потребления кислорода тканями. Так, по данным U, интенсивность утилизации кислорода была на 24% ($p < 0,05$) больше на 3 сут, что вероятно обусловлено активно функционирующими сохранившимися жизнеспособными клетками, и на 32-44% ($p < 0,05$) выше в позднем посткомпрессионном периоде (14-28 сут), в активную фазу регенерации.

Сатурация тканей кислородом способствовала увеличению окислительных процессов в мягких тканях области повреждения. На 14-28 сут наблюдалось повышение показателя ФПК в основной группе в 2,1-2,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с его значением у животных без лечения. Комплексный показатель ЭКО, отражающий изменение микроциркуляции, потребления кислорода и метаболизма в тканях области компрессии был повышен на 43-95% ($p < 0,05$) в активную фазу воспаления и в 3,3-4,5 раза ($p < 0,05$) в фазу регенерации относительно крыс, не получавших лечение. Полного восстановления микроциркуляции и окислительного метаболизма к значениям у интактных животных к исходу периода наблюдения (28 сут) не отмечалось.

Обсуждение

Выраженность повреждений при компрессионной травме определяется длительностью периода ишемии и реперфузии. Период ишемии возникает при воздействии продолжительного статического сдавления тканей, а период реперфузии – восстановлением гемо- и лимфоциркуляции после устранения компрессии. При длительной ишемии в клетках развивается гипоксия с последующим некробиозом и аутолизом. После устранения компрессии из области повреждения в системный кровоток попадают ферменты, электролиты и продукты клеточного распада, которые способствуют развитию мембраногенного отека и цитолиза. В ранние сроки после травмы (3-7 сут) в сыворотке крови регистрируется повышение уровня миоглобина (миоглобинемия), внутриклеточного белка поперечно-полосатых мышц, который образуется при значительном их разрушении [13]. Кроме того, при повреждении клеточных мембран в интерстициальное пространство, а затем в кровь, поступают ионы калия с развитием гиперкалиемии. Росту калия в крови при компрессионной травме также способствует развитие острой почечной недостаточности (олиго- и анурическая стадия) [14].

Восстановление кровотока в ишемизированных тканях приводит к активации системы протеолиза и развитию выраженной гемокоагуляции, фибринолиза и нарушения микроциркуляции [15]. Локальное повреждение сосудов приводит к адгезии тромбоцитов на поверхности эндотелия, их активации с выбросом цито- и хемокинов, что стимулирует

хемотаксис нейтрофилов и моноцитов в очаг повреждения, где они выполняют основную функцию по фагоцитозу клеточного и тканевого детрита [16]. В свою очередь, нейтрофилы способны выделять во внеклеточное пространство протеиназы и активные формы кислорода, которые обладают значительным повреждающим действием на ткани, и могут вызывать отсроченную раннюю или позднюю гибель клеток [17, 18].

Биологическая роль воспаления как типового патологического процесса заключается как в ограничении и ликвидации очага повреждения и вызвавших его патогенных агентов, так и привлечении регенеративно-активных клеток иммунного ряда, способных продуцировать пластический клеточный материал. Основу этой клеточной популяции составляют макрофаги, которые вначале участвуют в процессе фагоцитоза, а по мере стихания воспалительного процесса в тканях превращаются в фибробласты.

При уменьшении выраженности деструктивных процессов в области повреждения отмечается значительное снижение сывороточного миоглобина, а калий крови восстанавливается до значений у интактных животных. В области повреждения отмечается формирование грануляционной ткани, которая представляет собой начальный этап образования соединительной ткани (рубцевания) [19]. После элиминации некротических масс и уменьшения выраженности локального воспалительного процесса образующаяся грануляционная ткань защищает рану от проникновения микробов, замещает дефект скелетных мышц и создает условия для созревания новых эпителиальных клеток за счет своей плотной структуры и большого количества сосудов, фибробластов и различных видов лейкоцитов [20]. Заживление ран с участием грануляционной ткани происходит вторичным натяжением и характеризуется повторным повреждением стенки вновь образованных сосудов ферментами гибнущих лейкоцитов и экзотоксинами микробных агентов [21].

В дальнейшем (14-28 сут), грануляционная ткань продолжает созревать до зрелой волокнистой и рубцовой ткани, а её основной клеточный пул, фибробласты, активно продуцируют преимущественно гликозоаминогликаны (ГАГ) и коллаген – матрикс и каркас для грануляционной ткани. Причем, если размножение фибробластов замедляется, то образующиеся фиброциты синтезируют преимущественно коллаген, за счет чего ткань становится грубой и менее эластичной. Баланс между синтезом и деструкцией коллагена поддерживается макрофагами, тучными клетками и фибробластами, которые вырабатывают и выделяют в окружающие ткани матриксные металлопротеиназы, способные разрушать компоненты внеклеточного пространства [20].

Локальное введение гиалуроновой кислоты в мягкие ткани области компрессии приводит к уменьшению деструктивных процессов в скелетных мышцах тазовой

конечности экспериментальных животных, снижает выраженность воспалительной реакции. Уменьшение области перитравматического некробиоза и быстрое очищение раны от тканевого детрита способствует восстановлению микроциркуляции и метаболизма в области повреждения, приводит к активации нейро- и ангиогенеза, регенерации поврежденных мышечных волокон с активным новообразованием мышечной ткани.

Основные эффекты ГК обусловлены её способностью связывать и удерживать молекулы воды в межклеточном пространстве тканей. Трёхмерная структура ГК придает раствору вязкоупругие свойства, а наличие полярных и неполярных сегментов обеспечивает способность к химическому и ионному взаимодействию с различными агентами. Водородные связи уравнивают макромолекулу ГК и способствуют формированию вторичных и третичных структур в полимерной системе [22].

Экзогенное введение ГК высокой молекулярной массы в мягкие ткани в активную фазу воспаления приводит к её расщеплению до средне- и низкомолекулярных молекул [23]. Высокомолекулярные структуры ГК обладают противовоспалительным и антиангиогенным действием, а низкомолекулярные (<450 кДа) – действуют противоположно, оказывая провоспалительный и проангиогенный эффект [23 24,].

Существует мнение, что ГК высокой молекулярной массы в фазу воспаления блокирует взаимодействие низкомолекулярных олигомеров ГК с провоспалительными рецепторами клеточной мембраны, что препятствует вторичной клеточной деструкции и отсроченной гибели клеток. ГК увеличивает подвижность воспалительных клеток и миграцию их в область повреждения, что создает предпосылки для замещения дефекта нормальной рубцовой тканью [25]. Следует добавить, что ГК как гидрогель может служить растворителем и уменьшать концентрацию воспалительных веществ и клеток в межклеточном пространстве.

Важное значение имеет взаимодействие ГК с рецептором CD44, расположенном на поверхности клеток, который проявляет к ГК повышенную аффинность. В результате связывания ГК и CD44 происходит активация клеток, что способствует их миграции, пролиферации и дифференцировке. Устойчивость к диссоциации ГК при взаимодействии с CD44 возрастает при увеличении её молекулярной массы [26]. Влияние ГК на дифференцировку фибробластов человека приводит к генетической экспрессии и сигнальной трансдукции CD44, связанной с ускорением заживления ран [27].

ГК являясь структурным компонентом внеклеточного матрикса обеспечивает механическую поддержку клеток в процессе заживления ран [28], способствует формированию каркаса для коллагеновых волокон, стимулирует ангиогенез [23]. ГК

участвует в фазах воспаления, пролиферации/ миграции клеток, формировании и эпителизации рубца в процессе заживления ран [29].

Выводы

1. При продолжительной статической компрессии ключевыми патологическими процессами в мягких тканях поврежденной конечности являются ишемический некроз скелетных мышц с последующим развитием грануляционной ткани и формированием мышечно-соединительнотканного регенерата с преобладанием в нем соединительной ткани и усилением коллагенообразования. В основе повреждения лежат механизмы нарушения локальной микроциркуляции и метаболизма, инициирующие системную воспалительную реакцию с активацией провоспалительного звена системного иммунитета.

2. Ранняя локальная коррекция повреждений мягких тканей гиалуроновой кислотой купирует микроциркуляторные и метаболические нарушения в раннюю фазу раневого процесса, что сдерживает прогрессирование провоспалительной реакции, ограничивает некроз тканей в зоне компрессии, способствует активному неомиогенезу без образования выраженного соединительнотканного регенерата.

Литература

1. Мусселиус, С.Г. Оказание медицинской помощи пострадавшим при землетрясении в Армении (к 30-летию трагедии) / С.Г. Мусселиус, В.Г. Теряев, В.И. Потапов, Л.Н. Зимина // Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». – 2020. – Т.9, №1. – С.123–129. doi: 10.23934/2223-9022-2020-9-1-123-129
2. Genthon, A.L. Crush syndrome: a case report and review of the literature / A.L. Genthon, S.R. Wilcox // J. Emerg. Med. – 2014 – Vol.46, №2. – P.313–319.
3. Абросимов, Д.А. Количественный анализ мозгового натрийуретического пептида кардиомиоцитов крыс в раннем постреперфузионном периоде / Д.А. Абросимов, Е.И. Яковлева, М.Л. Бугрова // Цитология. – 2015. – №4. – С.305–308.
4. Данилов, Р.К. Раневой гистогенез: гистогенетические основы / Р.К. Данилов. – СПб: ВМедА, 2008. – 379 с.
5. Шулепов, А.В. Регенеративные эффекты регионарного применения мезенхимных стромальных клеток человека в геле гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме мягких тканей / А.В. Шулепов, Н.В. Шперлинг, Ю.В. Юркевич [и др.] // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2018. – №1. – С.75–83. doi: 10.25016/2541-7487-2018-0-1-75-83
6. Aya, K.L. Hyaluronan in wound healing: rediscovering a major player / K.L. Aya, R. Stern // Wound Repair Regen. – 2014. – Vol.22, №5. – P.579–593. doi: 10.1111/wrr.12214
7. Johnson, P. Hyaluronan and its interactions with immune cells in the healthy and inflamed lung / P. Johnson, A.A. Arif, S.S.M. Lee-Sayer, Y. Dong // Front. Immunol. – 2018. – № 9. – P.2787–2795. doi: 10.3389/fimmu.2018.02787
8. Petrey, A.C. Hyaluronan, a crucial regulator of inflammation / A.C. Petrey, C.A. Motte // Front. Immunol. – 2014. – Vol.11, №5. – P.101. doi: 10.3389/fimmu.2014.00101
9. Шперлинг, И.А. Изменения микроциркуляции и метаболической активности в мягких тканях после локального применения гиалуроновой кислоты в разных режимах при экспериментальной взрывной травме / И.А. Шперлинг, Р.В. Семакин, А.В. Шулепов [и др.] // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2022. – №1. – С.90–97. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-90-97
10. Шперлинг, И.А. Саногенетические и фармакологические эффекты локального применения гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме мягких тканей / И.А. Шперлинг, А.В. Шулепов, Н.В. Шперлинг [и др.] // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2020. – Т.10, №2. – С.53–60. doi: 10.37279/2224-6444-2020-10-2-53-60

11. Wang, W. Protective effects of ischemic postconditioning on skeletal muscle following crush syndrome in the rat / W. Wang, Yu. Wang, J. Yang // *Acta Cir. Bras.* – 2021. – Vol.36, №7. – P.e360701. doi.org/10.1590/ABC360701
12. Yamamoto, T. Detection of ruminant meat and bone meal in feeds by sandwich ELISA with monoclonal antibodies / T. Yamamoto, M. Kato, K. Endo [et al.] // *J. Vet. Med. Sci.* – 2016. – Vol.77, №12. – P.1605–1609. doi: 10.1292/jvms.15-0078
13. Мизиев, И.А. Индивидуальный прогноз острого повреждения почек у больных с сочетанной травмой / И.А. Мизиев, М.Х. Махов, А.К. Жигунов [и др.] // *Медицина катастроф.* – 2014. – Т.88, №4. – С.18–20.
14. Zimmerman, J.L. Rhabdomyolysis / J.L. Zimmerman, M.C. Shen // *Chest.* – 2013. – Vol.144, №3. – P.1058–1065. doi: 10.1378/chest.12-2016
15. Харченко, В.З. Молекулярные механизмы развития экстремальных состояний и их коррекция / В.З. Харченко, А.В. Кубышкин, И.И. Фомочкина [и др.]. – Симферополь: Доля, 2011. – 155 с.
16. George, M.J. Platelet biomechanics, platelet bioenergetics, and applications to clinical practice and translational research / M.J. George, J. Bynum, P. Nair [et al.] // *Platelets.* – 2018. – Vol.29. – P.431–439.
17. Завалий, А.А. Динамика показателей неспецифических протеиназ и их ингибиторов при лечении больных острым гнойным риносинуситом мукоактивными препаратами / А.А. Завалий, А.В. Кубышкин, А.А. Жукова // *Бюллетень сибирской медицины.* – 2017. – Т.16, №1. – С.27–35. doi: 10.205 38/ 1682-0363-2017-1-27-35
18. Данилов, Р.К. Гистогенетический анализ как основа механизмов реактивности, регенерации и патологии органов и систем / Р.К. Данилов, И.А. Одинцова // *Вопросы морфологии XXI века.* – 2018. – №5. – С.8–16.
19. Никогосян, В.В. Клеточно-дифференный состав грануляционной ткани в репаративном гистогенезе / В.В. Никогосян, А.В. Горбулич // *Известия Российской Военно-медицинской академии.* – 2020. – Т.2, №1. – С.118–120.
20. Шаповалова, Е.Ю. Влияние полинуклеотидов на содержание макрофагов в тканях регенерирующей ишемизированной раны / Е.Ю. Шаповалова, Т.А. Бойко, Ю.Г. Барановский [и др.] // *Современные проблемы науки и образования.* – 2017. – №6. – С.140.
21. Liu, Q. Increased blood flow in keloids and adjacent skin revealed by laser speckle contrast imaging / Q. Liu, X. Wang, Y. Jia [et al.] // *Lasers Surg. Med.* – 2016. – Vol.48, №4. – P.360–364. doi: 10.1002/lsm.22470
22. Zelenetskii, A.N. Polycomplexes of hyaluronic acid and borates in a solid state and solution: synthesis, characterization and perspectives of application in boron neutron capture

therapy / A.N. Zelenetskii, S. Uspenskii, A. Zaboronok [et al.] // *Polymers (Basel)*. – 2018. – Vol.10, №2. – P.181. doi: 10.3390/polym10020181

23. Tavianatou, A.G. Hyaluronan: molecular size-dependent signaling and biological functions in inflammation and cancer / A.G. Tavianatou, I. Caon, M. Franchi [et al.] // *FEBS J.* – 2019. – Vol.286, №15. – P.2883–2908. doi: 10.1111/febs.14777

24. Fallacara, A. Hyaluronic acid in the Third Millennium / A. Fallacara, E. Baldini, S. Manfredini [et al.] // *Polymers (Basel)*. – 2018. – Vol.10, №7. – P.701–710. doi: 10.3390/polym10070701

25. Schimizzi, A.L. High-molecular-weight hyaluronan inhibits macrophage proliferation and cytokine release in the early wound of a preclinical postlaminectomy rat model / A.L. Schimizzi, J.B. Massie, M. Murphy [et al.] // *Spine J.* – 2006. – Vol.6, №5. – P.550–556. doi: 10.1016/j.spinee.2005.12.005

26. Price, Z.K. Differing roles of hyaluronan molecular weight on cancer cell behavior and chemotherapy resistance / Z.K. Price, N.A. Lokman, C. Ricciardelli // *Cancers (Basel)*. – 2018. – Vol.10, №12. – P.482. doi: 10.3390/cancers10120482

27. Wang, Y. CD44 inhibits α -SMA gene expression via a novel G-actin/MRTF-mediated pathway that intersects with TGF β R/p38MAPK signaling in murine skin fibroblasts / Y. Wang, J.A. Mack, E.V. Maytin // *J. Biol. Chem.* – 2019. – Vol.294, №34. – P.12779–12794. doi: 10.1074/jbc. RA119.007834

28. Patrúlea, V. Polyelectrolyte nanocomplexes based on chitosan derivatives for wound healing application / V. Patrúlea, L.A. Laurent-Applegate, V. Ostafe [et al.] // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* – 2019. – Vol.140, №7. – P.100–108. doi: 10.1016/j.ejpb.2019.05.009

29. Nyman, E. Hyaluronic acid accelerates re-epithelialization and alters protein expression in a human wound model / E. Nyman, J. Henricson, B. Ghafouri [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open.* – 2019. – Vol.7, №5. – P.e 2221. doi: 10.1097/GOX.0000000000002221