



УДК 616-018-001.32:615.031:547.995.15]-07-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-137-144>

Скрининг режимов локального применения гиалуроновой кислоты для повышения эффективности лечения компрессионной травмы мягких тканей

Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Кузьмина О.Ю.

Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины (ГНИИИ ВМ) Россия, 195043, г. Санкт-Петербург, Лесопарковая, 4

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить состояние микроциркуляции и метаболической активности в мягких тканях области компрессии при экспериментальной компрессионной травме после локального введения гиалуроновой кислоты и определить эффективный режим ее применения.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 178 самцах крыс линии Вистар весом 280–340 г в возрасте 4–4,5 мес. Дизайн исследования включал в себя обезболивание, моделирование компрессионной травмы (КТ), локальное введение 1,75%-го раствора гиалуроновой кислоты (ГК) в область компрессии, системное внутривенное введение 0,9%-го раствора натрия хлорида ежедневно 3 сут, исследование микроциркуляции и метаболизма мягких тканей области повреждения через 3, 7, 14 и 28 сут после травмы.

Результаты. Раннее (через 3 ч после травмы) локальное применение ГК при КТ улучшает микроциркуляцию, повышает потребление кислорода, активизирует окислительный метаболизм скелетных мышц, что способствует уменьшению выраженности деструктивных процессов в области повреждения. Наиболее эффективным является двукратное введение ГК через 3 ч после прекращения компрессии и дополнительно через 24 ч после травмы.

Заключение. При компрессионной травме мягких тканей раннее локальное внутримышечное введение гиалуроновой кислоты в область повреждения в первые несколько часов после прекращения компрессии является саногенетически обоснованным способом коррекции ишемических повреждений.

Ключевые слова: компрессионная травма, травматическая ишемия мышц, микроциркуляция, метаболизм, гиалуроновая кислота, лазерная доплеровская флоуметрия

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным комитетом по этике ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ (протокол № 13 от 22.06.2020).

Для цитирования: Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Кузьмина О.Ю. Скрининг режимов локального применения гиалуроновой кислоты для повышения эффективности лечения компрессионной травмы мягких тканей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):137–144. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-137-144>.

✉ Шулепов Александр Васильевич, soash@mail.ru

Screening of local hyaluronic acid injection modes to increase the efficiency of treating crush injury of soft tissues

Shperling I.A., Shulepov A.V., Shperling N.V., Kuzmina O.Yu.

State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine
4, Lesoparkovaya Str., St. Petersburg, 195043, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the state of microcirculation and metabolic activity of the soft tissues in the compression area in experimental crush injury after local hyaluronic acid injection and to determine the effective mode of its application.

Materials and methods. The experiments were carried out on 178 male Wistar rats aged 4–4.5 months and weighing 280–340 g. The study design included anesthesia, modeling of crush injury (CI), local injection of 1.75% hyaluronic acid (HA) solution into the compression area, systemic intravenous injection of 0.9% sodium chloride solution daily for 3 days, and a study of microcirculation and metabolism of the soft tissues in the damaged area 3, 7, 14, and 28 days after the injury.

Results. Early (3 hours after the injury) local application of HA for CI improved microcirculation, increased oxygen consumption, and activated oxidative metabolism in the skeletal muscles, which helped reduce the severity of destructive processes in the damaged area. The most effective injection mode was two-fold administration of HA: 3 hours after the compression cessation and additionally 24 hours after the injury.

Conclusion. In the crush injury, early local intramuscular injection of HA into the damaged area in the first few hours after the cessation of compression is a sanogenetically substantiated method for correcting traumatic ischemia of the muscles.

Keywords: crush injury, traumatic ischemia of the muscles, microcirculation, metabolic state, hyaluronic acid, laser Doppler flowmetry

Conflict of interests. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at the State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine (Protocol No. 13 of 22.06.2020).

For citation: Shperling I.A., Shulepov A.V., Shperling N.V., Kuzmina O.Yu. Screening of local hyaluronic acid injection modes to increase the efficiency of treating crush injury of soft tissues. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):137–144. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-137-144>.

ВВЕДЕНИЕ

Компрессионная травма (КТ) (синоним: травматическая ишемия мышц) – патологический процесс, который развивается после продолжительного сдавления мягких тканей, преимущественно скелетных мышц конечностей, приводящий к деструкции мышечных волокон, формированию объемных дефектов мышечной ткани с последующим их замещением соединительной тканью [1]. Для нормального функционирования скелетных мышц в физиологических условиях, а также при их регенерации после повреждения особое значение имеет состояние локальной микроциркуляции, которое обеспечивает метаболические потребности мышечной ткани в кислороде и нутриентах [2]. Высокий уровень ми-

кроовотока в мышцах стимулирует пролиферацию миобластов и облегчает миграцию в область повреждения других клеток раневого процесса [3]. Создание матрикс-опосредованных локальных условий для межклеточных взаимодействий способствует активации камбиальных клеточных источников мышечной ткани [4].

Одним из перспективных подходов является использование биodeградируемых гидрогелей на основе гиалуроновой кислоты (ГК), которые обеспечивают индукцию пролиферации и миграции мeлодифференцированных клеток [5]. Положительный регенеративный эффект ГК при локальном применении связан с улучшением микроциркуляции, активацией метаболизма, усилением ангиогенеза и репаративного миогенеза [6]. Даже однократное

локальное введение гиалуроновой кислоты в раннем посткомпрессионном периоде способствует восстановлению микрокровотока и активации метаболизма в скелетных мышцах области повреждения [7]. Для определения лечебного потенциала ГК и выявления механизмов ее влияния на регенерацию скелетных мышц при КТ существует необходимость проведения исследований по изучению эффектов ГК на микроциркуляцию и метаболизм тканей области повреждения после ее одно- и многократного введения в различные сроки посткомпрессионного периода. Это позволит разработать методику локального применения ГК в рамках усовершенствования методов лечения пострадавших с КТ.

Цель исследования: изучить состояние микроциркуляции и метаболической активности мягких тканей при экспериментальной компрессионной травме конечности после локального введения гиалуроновой кислоты в область повреждения в различные сроки после травмы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 178 половозрелых самцах крыс линии Вистар весом 310 ± 30 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область, Россия), в лаборатории ГНИИИ ВМ. Возраст крыс составил 4–4,5 мес. До начала эксперимента все животные проходили карантин в течение 14 сут (температуре воздуха 25 ± 2 °С, свободном доступе к пище, воде). Исследование одобрено локальным комитетом по этике ГНИИИ ВМ (протокол № 13 от 22.06.2020), проведено в соответствии с Директивой 2010/63/ЕС, Хельсинкской декларацией и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Дизайн исследования включал следующие этапы: обезбоживание; моделирование КТ; локальное введение ГК в область компрессии; системное внутривенное введение 0,9%-го раствора натрия хлорида ежедневно в течение 3 сут; исследование микроциркуляции и метаболизма мягких тканей области повреждения через 3, 7, 14 и 28 сут после травмы.

С целью обезбоживания до нанесения травмы крысам внутримышечно вводили золетил (Virbac, Франция) и ксилазин (Pharmamagist Ltd., Венгрия) по 10 мг/кг каждого препарата. Моделирование КТ осуществляли путем контролируемой механической компрессии мягких тканей бедра по методике, описанной нами ранее [7].

Все животные были разделены на 6 групп по 28 особей в каждой: 5 основных (I–V) и контрольная группы. Животным основной группы I (ГК-3) локально в область компрессии стерильным однора-

зовым шприцем веерным способом вводили водный раствор ГК однократно через 3 ч после прекращения компрессии; группы II (ГК-24) – вводили ГК однократно через 24 ч; группы III (ГК-48) – вводили ГК однократно через 48 ч; группы IV (ГК-3 + 24) – вводили ГК двукратно, через 3 и 24 ч дополнительно; группы V (ГК-3 + 24 + 48) – вводили ГК троекратно, через 3 ч и дополнительно через 24 и 48 ч. Крысы контрольной группы ($n = 28$) локальное лечение не получали. Интактные животные ($n = 10$) компрессионному воздействию не подвергались.

Для исследования применяли ГК в виде водного раствора геля Hyalift 3,5 (Aesthetic Dermal S.L., Испания), который непосредственно перед введением разводили 0,9%-раствором натрия хлорида в соотношении 1 : 1 и получали рабочий 1,75%-й раствор ГК с необходимой текучестью. Раствор ГК вводили подопытным животным внутримышечно в область компрессии путем веерного обкалывания в суммарном объеме 0,5–0,8 мл на одно животное. С целью профилактики обезвоживания всем животным с КТ в течение 3 сут ежедневно в хвостовую вену вводили 0,9%-й раствор натрия хлорида в дозе 2,0 мл/кг массы тела.

В ходе динамического наблюдения за подопытными животными проводили оценку микроциркуляции и метаболизма в скелетных мышцах области бедра задней (тазовой) конечности с помощью комплекса «ЛАКК-М» (НПП «ЛАЗМА», Россия) через 3, 7, 14 и 28 сут после травмы. 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» 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 и (или) уменьшение величины K_v указывает, соответственно, на улучшение и (или) ухудшение состояния микроциркуляции.

В режиме прибора «Оптическая тканевая оксиметрия» 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» и определяли значение амплитуды спектров флуоресценции восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида ($A_{НАДН}$, усл. ед.) и окисленной формы флавинаде-

ниндинуклеотида ($A_{\text{ФАД}}$, усл. ед.) с последующим расчетом флуоресцентного показателя потребления кислорода (ФПК, отн. ед.) по формуле: $\text{ФПК} = A_{\text{ФАД}}/A_{\text{НАДН}}$. Комплексное состояние микроциркуляции и метаболизма скелетных мышц оценивали с помощью показателя эффективности кислородного обмена (ЭКО, отн. ед.) и вычисляли как $\text{ЭКО} = M \times U \times \text{ФПК}$. Показатели ЭКО и ФПК – наиболее информативные показатели, которые характеризуют взаимосвязь состояния микроциркуляции в тканях с интенсивностью обмена веществ в них.

Определение концентрации миоглобина и калия в сыворотке крови осуществляли на автоматическом биохимическом и иммуноферментном анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology Inc., США). Повышение калия свидетельствовало о разрушении клеток в результате травмы, миоглобина – о деструкции преимущественно мышечной ткани [1]. Для получения среднестатистических значений нормы в эксперименте использовали интактных крыс.

Полученные данные обработаны с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). После проверки гипотезы на нормальность с помощью критерия Колмогорова – Смирнова рассчитывали медиану, верхний и нижний квартили $Me (Q_{25}-Q_{75})$. При сравнении данных использовали непараметрический U -критерий Манна – Уитни, а различия между величинами считали достоверными, если вероятность их тождества оказывалась менее 5% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гибель животных в основных, контрольной и группе сравнения наблюдалась в первые 4 сут и составила в среднем 33%. При КТ у животных отмечались выраженные нарушения микроциркуляции в области повреждения. 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-е сут после травмы. Нарушение локального кровотока в поврежденных мышцах приводило к снижению потребления кислорода тканями, показатель SO_2 вначале (3–7-е сут) повышался в 2,7–2,8 раза ($p < 0,05$), а затем к 28-м сут снижался незначительно (в 2,2 раза при $p < 0,05$) по сравнению с интактными животными, что свидетельствовало о высокой концентрации в крови не утилизируемого тканями кислорода.

Схожие противоположно направленные изменения отмечались в динамике индекса U . Низкий уровень потребления кислорода мягкими тканями приводил к нарушению окислительных процессов в них. Показатель ФПК на 3-и сут повышался на 90,1%

($p < 0,05$) относительно значений у интактных животных с последующим восстановлением на 7–28-е сут. Зафиксированы изменения комплексного показателя ЭКО, который был максимально снижен к исходу 7-х сут в 10,7 раз (при $p < 0,05$) по сравнению со здоровыми животными. Возможно, повышение интенсивности метаболических процессов в мягких тканях области повреждения в ранние сроки после прекращения компрессии (3 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.

Локальное введение ГК в область повреждения способствовало улучшению перфузии тканей. Наиболее выраженные положительные изменения изучаемых параметров отмечались у животных, которым вводили ГК, начиная с 3 ч после прекращения компрессии (ГК-3, ГК-3/24, ГК-3/24/48), причем в группах животных с дву- и троекратным введением показатели микроциркуляции были значительно лучше. Так, показатель K_v в группе ГК-3/24 и ГК-3/24/48 повышался на 38,6–60,3% ($p < 0,05$), чем в контрольной группе во все сроки наблюдения и на 9,9–11,2% ($p < 0,05$), чем в группе ГК-3 и ГК-24 в раннем посткомпрессионном периоде (3–7-е сут). Введение ГК в более поздние сроки (48 ч) не приводило к усилению микрокровотока в области повреждения. Следует отметить, что показатели перфузии тканей во всех опытных группах в течение всего периода наблюдения имели положительную динамику. По данным K_v , к исходу 28-х сут в группах ГК-3/24 и ГК-3/24/48 уровень микроциркуляции в области повреждения восстанавливался до значений у интактных животных.

Улучшение микрокровотока в области повреждения способствовало повышению потребления кислорода тканями. Так, по данным SO_2 и U , интенсивность утилизации кислорода была наибольшей у животных из групп ГК-3, ГК-24, ГК-3/24 и ГК-3/24/48 во все сроки наблюдения, причем в группах с дву- и троекратным введением показатель SO_2 на 3 и 28 сут был ниже на 7,6–16,6% ($p < 0,05$), а показатель U выше на 20,0% ($p < 0,05$) только на 28 сут, чем у крыс из группы ГК-3. Наихудшие значения показателей потребления кислорода отмечались после инъекции ГК через 48 ч после прекращения компрессии. Полного восстановления сатурации тканей кислородом в области компрессии после применения ГК не наблюдалось.

У всех животных из опытных групп отмечались выраженные изменения соотношения амплитуды

ФАД и НАДН. Вследствие этого ФПК в группах ГК-3 и ГК-24 был повышен на 14–28-е сут, а в группах ГК-3/24 и ГК-3/24/48 немного раньше, начиная с 7-х сут – в 1,8–2,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с животными контрольной группы. Позднее применение ГК через 48 ч после прекращения компрессии приводит к усилению метаболизма в ранние сроки (3 сут) за счет активации анаэробных процессов и не имеет достоверных различий с крысами из контрольной группы. Изменения микроциркуляции, потребления кислорода и метаболизма в тканях области компрессии нашли отражение в динамике комплексного показателя ЭКО, который во всех экспериментальных группах имел минимальные значения на 7-е сут.

Максимальные значения ЭКО наблюдалось в группах ГК-3 и ГК-24 на 14–28-е сут и в группах ГК-3/24 и ГК-3/24/48 – во все сроки наблюдения. Применение ГК спустя 48 ч приводит к незначительному повышению ЭКО только к исходу 28 сут. Двух- и трехкратное введение ГК существенно повышает эффективность кислородного обмена в области повреждения (на 37,3–48,2%, $p < 0,05$) на 14–28-е сут по сравнению с крысами из группы с однократным ранним (через 3 ч) введением ГК. Следует отметить, что у крыс из группы ГК-3/24 и ГК-3/24/48 показатель ЭКО к концу периода наблюдения (28 сут) восстанавливался до значений у интактных животных. Учитывая, что показатель ЭКО отражает состояние тканевой перфузии, сатурации кислородом и метаболизма, представлен-

ная его динамика свидетельствует о положительном и (или) отрицательном влиянии ГК на тканевой обмен при раннем и (или) позднем ее введении.

Нарушение метаболизма при КТ приводит к развитию некробиотических процессов в мягких тканях. Продукты распада поврежденных мышц попадают в системный кровоток с развитием миоглобинемии и гиперкалиемии. Раннее однократное и (или) двукратное локальное введение ГК (через 3 и 24 ч) приводило к снижению уровня миоглобина на 19,7–38,7% ($p < 0,05$) на 3–14-е сут относительно животных контрольной группы. Применение ГК в поздние сроки (через 48 ч) не вызывало снижения миоглобина в крови. К исходу периода наблюдения выраженность миоглобинемии уменьшается, но остается в 4,1 раза выше ($p < 0,05$), чем у интактных животных. Сходные изменения отмечаются в динамике уровня калия крови, который после введения ГК через 3 и 24 ч снижается на 3 сут в среднем на 36,8% ($p < 0,05$) относительно животных контрольной группы. В дальнейшем (7–28-е сут) концентрация калия крови нормализуется и соответствует значениям у интактных крыс.

В табл. 1 и 2 группы животных, имеющие лучшие значения показателей микроциркуляции, потребления кислорода и окислительного метаболизма, а также низкий уровень миоглобина и калия в сыворотке крови, расположены в верхней части таблицы, а худшие – в нижней.

Таблица 1

Показатели микроциркуляции и метаболизма в мягких тканях бедра крыс после локального введения гиалуроновой кислоты в разных режимах при экспериментальной компрессионной травме, Ме (Q_{25} – Q_{75})

Группа исследования	Срок наблюдения после травмы, сут	<i>n</i>	K_v , %	SO_2 , %	<i>U</i> , усл. ед.	ФПК, усл. ед.	ЭКО, отн. ед.
Интактные животные (<i>n</i> = 10)		10	13,5 (12,5–14,3)	31,6 (30,3–32,9)	3,10 (3,04–3,16)	0,51 (0,43–0,56)	22,5 (21,5–23,6)
Опытная группа IV (ГК-3/24), <i>n</i> = 28	3	8	10,9 ¹⁻⁴ (10,4–11,7)	64,1 ¹⁻⁴ (62,7–65,4)	1,50 ¹⁻³ (1,42–1,66)	0,90 ¹ (0,84–0,96)	9,7 ¹⁻³ (8,6–10,9)
	7	8	11,7 ¹⁻⁴ (11,1–12,3)	78,6 ¹⁻³ (77,5–80,2)	1,22 ¹ (1,10–1,30)	0,63 ^{2,3} (0,57–0,75)	6,1 ¹⁻³ (4,8–7,6)
	14	6	11,8 ^{2,3} (11,3–12,5)	59,8 ¹⁻³ (58,0–60,6)	1,64 ¹⁻³ (1,59–1,74)	0,79 ¹⁻³ (0,70–0,89)	12,6 ¹⁻⁴ (11,7–13,8)
	28	6	12,2 ^{2,3} (11,6–12,9)	39,8 ¹⁻⁴ (39,0–40,6)	2,46 ¹⁻⁴ (2,42–2,59)	0,90 ¹⁻³ (0,81–1,00)	22,8 ²⁻⁴ (21,6–24,6)
Опытная группа V (ГК-3/24/48), <i>n</i> = 28	3	8	11,4 ¹⁻⁴ (10,3–11,8)	63,5 ¹⁻⁴ (62,1–64,8)	1,54 ¹⁻³ (1,46–1,70)	0,89 ¹ (0,85–0,97)	10,1 ¹⁻³ (9,0–11,2)
	7	8	11,8 ¹⁻⁴ (11,2–12,4)	77,8 ¹⁻³ (76,7–79,4)	1,26 ¹ (1,16–1,39)	0,60 ² (0,52–0,73)	5,8 ¹⁻³ (4,6–7,0)
	14	6	12,0 ^{2,3} (11,4–12,6)	60,1 ¹⁻³ (59,0–62,1)	1,63 ¹⁻³ (1,58–1,73)	0,81 ¹⁻³ (0,72–0,91)	12,5 ¹⁻⁴ (11,1–13,8)
	28	6	12,1 ^{2,3} (11,4–12,7)	40,2 ¹⁻⁴ (39,4–41,0)	2,44 ¹⁻⁴ (2,40–2,57)	0,89 ¹⁻³ (0,79–0,94)	21,9 ²⁻⁴ (21,3–23,6)
Опытная группа I (ГК-3), <i>n</i> = 28	3	8	9,8 ^{1,2} (8,7–10,2)	69,4 ¹⁻³ (67,5–71,4)	1,38 ^{1,2} (1,34–1,48)	0,90 ¹ (0,84–0,98)	8,6 ^{1,2} (7,5–9,8)
	7	8	10,1 ¹⁻³ (9,2–10,5)	79,7 ¹⁻³ (77,3–80,9)	1,20 ¹ (1,10–1,33)	0,50 (0,41–0,58)	4,1 ¹ (2,7–5,1)

Окончание табл. 1

Группа исследования	Срок наблюдения после травмы, сут	<i>n</i>	K_p , %	SO_2 , %	<i>U</i> , усл. ед	ФПК, усл. ед.	ЭКО, отн. ед
Опытная группа I (ГК-3), <i>n</i> = 28	14	6	10,6 ^{1,2} (10,0–11,3)	62,1 ¹⁻³ (61,0–64,1)	1,58 ¹⁻³ (1,55–1,65)	0,77 ¹⁻³ (0,70–0,82)	8,5 ¹⁻³ (7,5–10,1)
	28	6	11,1 ^{1,2} (10,4–11,7)	47,7 ¹⁻³ (46,8–48,6)	2,05 ¹⁻³ (2,02–2,13)	0,89 ¹⁻³ (0,79–1,00)	16,6 ¹⁻³ (15,2–17,8)
Опытная группа II (ГК-24), <i>n</i> = 28	3	8	9,3 ^{1,2} (8,6–10,3)	72,8 ¹⁻³ (70,9–73,9)	1,35 ¹ (1,17–1,42)	0,93 ¹ (0,85–0,98)	8,4 ^{1,2} (7,2–9,6)
	7	8	9,7 ¹⁻³ (9,0–10,7)	82,5 ¹⁻³ (80,2–83,8)	1,19 ¹ (1,03–1,33)	0,46 (0,34–0,56)	3,4 ¹ (2,0–4,4)
	14	6	10,4 ^{1,2} (9,5–11,2)	65,6 ¹⁻³ (64,2–66,5)	1,49 ¹⁻³ (1,46–1,56)	0,67 ^{1,2} (0,57–0,77)	6,7 ^{1,2} (5,2–7,8)
	28	6	11,0 ^{1,2} (10,3–11,6)	45,4 ¹⁻³ (44,0–46,7)	2,16 ¹⁻³ (2,08–2,17)	0,79 ¹⁻³ (0,70–0,88)	15,2 ¹⁻³ (13,9–16,5)
Опытная группа III (ГК-48), <i>n</i> = 28	3	8	8,3 ¹ (7,7–8,8)	80,1 ^{1,2} (77,7–81,5)	1,22 ¹ (1,18–1,32)	0,95 ¹ (0,89–1,03)	6,4 ¹ (5,2–7,5)
	7	8	7,9 ¹ (7,2–8,7)	86,1 ¹ (84,4–88,3)	1,14 ¹ (1,02–1,26)	0,41 (0,34–0,49)	2,8 ¹ (1,6–4,3)
	14	6	9,2 ¹ (8,3–9,9)	74,5 ^{1,2} (72,7–78,0)	1,32 ¹ (1,24–1,39)	0,53 (0,44–0,62)	4,5 ¹ (3,4–6,1)
	28	6	9,9 ¹ (9,1–10,4)	57,1 ^{1,2} (55,3–58,0)	1,72 ^{1,2} (1,71–1,74)	0,57 (0,48–0,65)	8,4 ^{1,2} (7,2–9,7)
Контрольная группа (без локального лечения), <i>n</i> = 28	3	8	7,4 ¹ (6,7–8,0)	86,5 ¹ (84,6–87,6)	1,11 ¹ (0,95–1,15)	0,97 ¹ (0,89–1,06)	6,0 ¹ (5,1–6,9)
	7	8	6,8 ¹ (6,3–7,8)	89,7 ¹ (87,4–91,0)	1,07 ¹ (0,91–1,21)	0,36 (0,27–0,44)	2,1 ¹ (0,8–3,2)
	14	6	8,5 ¹ (7,7–9,2)	81,4 ¹ (80,0–82,3)	1,20 ¹ (1,09–1,23)	0,35 (0,26–0,45)	2,6 ¹ (1,1–3,7)
	28	6	8,8 ¹ (7,9–9,5)	69,1 ¹ (67,4–70,5)	1,42 ¹ (1,39–1,47)	0,34 (0,28–0,48)	3,7 ¹ (2,3–4,9)

^{1,2,3,4} $p < 0,05$ – различия с показателями у животных интактной, контрольной, ГК-48, ГК-3 группами (здесь и в табл. 2).

Таблица 2

Динамика содержания миоглобина и калия в сыворотке крови у крыс после локального введения гиалуроновой кислоты в разных режимах при экспериментальной компрессионной травме, $Me (Q_{25}-Q_{75})$

Группа исследования	Срок наблюдения после травмы, сут	<i>n</i>	Миоглобин, нг/мл	Калий, ммоль/л
Интактные животные, <i>n</i> = 10		10	77,5 (69,0–90,0)	4,1 (3,9–4,4)
Опытная группа IV (ГК-3/24), <i>n</i> = 28	3	8	780,4 ^{1,2} (731,8–829,0)	4,8 ^{1,2} (4,5–5,4)
	7	8	647,5 ¹⁻³ (583,0–660,7)	4,6 (4,2–4,9)
	14	6	409,0 ^{1,2} (357,1–461,1)	3,6 (3,1–4,0)
	28	6	322,4 ¹ (272,2–374,4)	3,6 (3,3–4,4)
Опытная группа V (ГК-3/24/48), <i>n</i> = 28	3	8	786,2 ^{1,2,3} (740,9–831,2)	4,9 ^{1,2} (4,7–5,3)
	7	8	634,2 ^{1,2} (586,8–679,1)	4,5 (4,0–4,8)
	14	6	411,4 ^{1,2} (368,9–453,0)	3,6 (3,3–3,8)
	28	6	318,1 ¹ (267,3–370,3)	3,6 (3,3–4,2)
Опытная группа I (ГК-3), <i>n</i> = 28	3	8	776,1 ^{1,2} (716,9–838,3)	5,0 ^{1,2} (4,7–5,6)
	7	8	694,0 ^{1,2,3} (630,4–707,3)	4,1 (3,5–4,4)
	14	6	447,2 ^{1,2} (386,0–507,2)	3,5 (3,3–3,9)
	28	6	354,6 ¹ (303,9–406,4)	4,4 (4,1–5,0)
Опытная группа II (ГК-24), <i>n</i> = 28	3	8	794,9 ^{1,2} (741,2–848,4)	5,8 ^{1,2} (5,5–6,4)
	7	8	768,2 ^{1,2} (721,2–815,7)	4,5 (3,9–4,8)
	14	6	549,3 ^{1,2} (497,9–601,6)	3,6 (3,3–3,8)
	28	6	346,5 ¹ (295,7–398,3)	3,8 (3,5–4,4)
Опытная группа III (ГК-48), <i>n</i> = 28	3	8	912,6 ¹ (861,9–964,7)	5,8 ^{1,2} (5,5–6,4)
	7	8	804,1 ¹ (757,1–851,6)	4,5 (3,9–4,8)
	14	6	584,5 ¹ (542,0–626,1)	3,4 (3,2–3,8)
	28	6	340,0 ¹ (289,2–392,2)	3,8 (3,5–4,4)
Контрольная группа (без локального лечения), <i>n</i> = 28	3	8	971,0 ¹ (959,5–1000,5)	7,6 ¹ (7,3–8,2)
	7	8	890,5 ¹ (832,50–960,0)	4,8 (4,2–5,1)
	14	6	701,0 ¹ (636,0–758,0)	3,6 (3,1–4,0)
	28	6	363,5 ¹ (318,0–409,0)	3,1 (2,8–3,9)

Таким образом, локальное введение ГК в ранние сроки после устранения компрессии (3 ч) при КТ приводит к улучшению микрокровотока в области повреждения, усилению потребления кислорода и активации метаболических процессов в тканях, что снижает выраженность деструктивных процессов в них. Лучшие эффекты наблюдались в группе животных, которым локально в область сдавления двукратно (через 3 и дополнительно через 24 ч после прекращения компрессии) вводили раствор ГК.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных результатов показал, что в мягких тканях области сдавления при КТ развивались выраженные нарушения микроциркуляции и метаболизма с преобладанием процессов анаэробного пути окисления. В ответ на локальное введение ГК наблюдалось улучшение микрокровотока в поврежденных мягких тканях, о чем свидетельствовало повышение коэффициента K_v на 32,4–72,1% ($p < 0,05$) по сравнению животными контрольной группы. При этом уровень кровотока в области повреждения имел наибольшие значения после локального введения ГК через 3 и 24 ч дополнительно в ранние сроки (3–7-е сут) после прекращения компрессии.

Восстановление нарушенной микроциркуляции способствовало повышению сатурации тканей кислородом, что нашло отражение в динамике показателей SO_2 и U . Так, после локального применения ГК вне зависимости от режима ее дозирования наблюдалось снижение SO_2 во все сроки наблюдения, что свидетельствовало о повышении потребления тканями кислорода на фоне восстановления кровообращения. Наибольшее снижение значений показателя SO_2 отмечалось у животных, которым вводили ГК через 3 и 24 ч дополнительно. Значимые изменения были выявлены при оценке показателя U , который имел тенденцию к увеличению при повышении потребления кислорода тканями.

Локальное применение ГК приводило к повышению U преимущественно в поздние сроки (14–28-е сут), что, возможно, обусловлено кислородными потребностями интенсивно регенерирующих мягких тканей. Раннее однократное или двукратное (через 3 и 24 ч дополнительно) введение ГК способствовало увеличению потребления кислорода тканями не только на 14–28-е сут, но еще и на 3-и сут наблюдения. Применения ГК в поздние сроки (через 24 или 48 ч) после травмы приводило к повышению усвояемости кислорода тканями лишь только к концу периода наблюдения (28-е сут).

Средние значения комплексных показателей ФПК и ЭКО после локального применения ГК, отражающие интенсивность окислительного метабо-

лизма в мягких тканях, подвергшихся компрессии, соответствовали показателям микроциркуляторного статуса и уровня кислородопотребления. Наиболее значимый положительный эффект ГК наблюдался в группах с ранним его введением (через 3 и 24 ч после устранения компрессии): в группе ГК-3 и ГК-24 на 14–28-е сут, в группе ГК-3/24 – 7–28-е сут. Позднее введение ГК (через 48 ч) существенно не влияло на интенсивность обменных процессов в тканях области повреждения. Динамика показателя ЭКО имела четкую зависимость от режима применения ГК. Так, локальное введение ГК в группе животных ГК-48 способствовало увеличению его значений на 28-е сут, в группе ГК-24 – на 14–28-е сут, группах ГК-3, ГК3/24 и ГК-3/24/48 – в течение всего срока наблюдения относительно значений у крыс контрольной группы.

При повреждении мягких тканей основной задачей лечебных мероприятий является замещение тканевого дефекта и активация механизмов регенерации, которые возможны только при восстановлении межклеточных взаимодействий [8]. ГК, находящаяся в области повреждения, обладающая гидрофильностью и высокой биосовместимостью, обеспечивает условия для диффузии питательных веществ, кислорода, а также миграции клеток иммунной системы [9].

Положительные эффекты ГК в раннем посттравматическом периоде связаны с облегчением миграции иммунных клеток, способных ограничить зону некроза и утилизировать разрушенные клеточные структуры из тканей. Проведенное исследование показало, что наиболее выраженное действие ГК проявляется при ее раннем локальном введении (через 3 ч), в то время как позднее введение (через 48 ч) малоэффективно. Объяснением этому могут служить знания физиологических механизмов восстановления поврежденных тканей, которые активируются сразу после травмы. Эти процессы генетически детерминированы и осуществляются под нейрогуморальным контролем [10].

В ранние сроки после прекращения компрессии при КТ в тканях области повреждения запускаются локальные защитные системы в ответ на массивную секрецию медиаторов воспаления, необходимую для локализации очага повреждения, устранения факторов вызвавшего его и элиминации продуктов распада. Все это способствует сохранению метаболической активности клеток, находящихся в некробиозе, и запускает процесс регенерации. Таким образом биологическое действие ГК осуществляется как на клеточном, так и на межклеточном уровнях. Клеточные эффекты ГК обусловлены ее способностью активировать рецепторный аппарат клеточных мембран и изменять ионные потоки, межклеточные направлены на поддержание гоме-

остаза тканей путем формирования биохимически стабильной межклеточной среды. В связи с этим становится понятной неэффективность локального введения ГК в область повреждения при КТ в сравнительно более поздние сроки после повреждения (48 ч). В то же время однократное (через 3 ч) и многократное раннее (через 3 и 24 ч дополнительно) локальное введение ГК патогенетически обосновано и оказывает положительное влияние на формирование саногенеза при КТ.

ВЫВОДЫ

1. Раннее локальное введение гиалуроновой кислоты в область повреждения через 3 ч после прекращения компрессии улучшает микроциркуляцию, повышает потребление кислорода тканями и положительно влияет на метаболизм скелетных мышц, снижает выраженность деструктивных процессов в них.

2. Наиболее эффективным способом коррекции ишемических повреждений является раннее многократное введение гиалуроновой кислоты в область компрессии через 3 и 24 ч дополнительно после травмы.

3. При компрессионной травме однократное или многократное внутримышечное введение гиалуроновой кислоты в область повреждения в раннем посткомпрессионном периоде является саногенетически обоснованным способом коррекции повреждений ишемического генеза.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бордаков В.Н., Алексеев С.А., Чуманевич О.А., Пацай Д.И., Бордаков П.В. Синдром длительного сдавления. *Военная медицина*. 2013;26(1):26–32.
2. Latroche C., Gitiaux C., Chrétien F., Desguerre I., Mounier R., Chazaud B. Skeletal muscle microvasculature: A highly dynamic lifeline. *Physiology (Bethesda)*. 2015;30(6):417–427. DOI: 10.1152/physiol.00026.2015.

3. Ronzoni F.L., Giarratana N., Crippa S., Quattrocchi M., Cassano M., Ceccarelli G. et al. Guide cells support muscle regeneration and affect neuro-muscular junction organization. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(4):1939. DOI: 10.3390/ijms22041939.
4. Lev R., Seliktar D. Hydrogel biomaterials and their therapeutic potential for muscle injuries and muscular dystrophies. *J.R. Soc. Interface*. 2018;15(138):20170380. DOI: 10.1098/rsif.2017.0380.
5. Leng Y., Abdullah A., Wendt M.K., Calve S. Hyaluronic acid, CD44 and RHAMM regulate myoblast behavior during embryogenesis. *Matrix Biol.* 2019;78–79:236–254. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.08.008.
6. 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: 10.37279/2224-6444-2020-10-2-53-60.
7. Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Юркевич Ю.В., Кузьмина О.Ю., Арутюнян А.А. и др. Саногенетические и фармакологические эффекты локального применения гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме мягких тканей. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020;10(2):53–60. DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-2-53-60.
8. Шибяев Е.Ю., Иванов П.А., Неведров А.В., Лазарев М.П., Власов А.П., Цоглин Л.Л. и др. Тактика лечения посттравматических дефектов мягких тканей конечностей. *Неотложная медицинская помощь им. Склифосовского*. 2018;7(1):37–43. DOI: 10.23934/2223-9022-2018-7-1-37-43.
9. Сигаева Н.Н., Колесов С.В., Назаров П.В., Вильданова Р.Р. Химическая модификация гиалуроновой кислоты и ее применение в медицине. *Вестник Башкирского университета*. 2012;17(3):1220–1241.
10. Vyas K.S., Vasconez H.C. Wound healing: biologics, skin substitutes, biomembranes and scaffolds. *Healthcare (Basel)*. 2014;2(3):356–400. DOI: 10.3390/healthcare2030356.

Информация об авторах

Шперлинг Игорь Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, зам. начальника НИИЦ ВМВМТ, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, gniivm_2@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7029-8602>

Шулепов Александр Васильевич – канд. мед. наук, науч. сотрудник, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, soash@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6134-809X>

Шперлинг Наталья Владимировна – д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, gniivm_2@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7865-486X>

Кузьмина Оксана Юрьевна – науч. сотрудник, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, gniivm_2@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4095-985X>

(✉) Шулепов Александр Васильевич, soash@mail.ru

Поступила в редакцию 10.12.2021;
одобрена после рецензирования 14.02.2022;
принята к публикации 10.03.2022