

УДК 616-001.45-002:612.08

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-8-16>

СИСТЕМНАЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЗРЫВНОЙ РАНЕ

ШУЛЕПОВ А.В.^{1*}, ШПЕРЛИНГ М.И.², ЮРКЕВИЧ Ю.В.¹, ШПЕРЛИНГ Н.В.¹, МИНАЕВА Л.В.²¹ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины»
Министерства обороны Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия²ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации,
г. Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Цель. Оценить динамику уровня циркулирующих цитокинов с позиции системного воспалительного ответа в различные фазы раневого процесса при экспериментальной взрывной ране.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на 60 крысах-самцах линии Вистар, разделенных на группы: основную (n = 50), которым наносили взрывную рану и интактную (n = 10). Моделирование взрывной раны мягких тканей проводили в условиях общего обезболивания с использованием терочных петард, начиненных пиротехнической смесью. Через 3, 7, 14 и 28 суток после повреждения оценивали внешний вид раны, характер раневого отделяемого, площадь раневого дефекта, выраженность локального отека тканей, концентрацию миоглобина и калия в сыворотке крови, содержание в сыворотке крови провоспалительных (IL-1 β , TNF- α , IL-6) и противовоспалительных (IL-10) цитокинов.

Результаты. Через 3–7 суток после повреждения наблюдалось обильное серозно-гнойное раневое отделяемое, выраженный локальный отек тканей без изменений площади раневого дефекта. В сыворотке крови отмечалось повышение уровня миоглобина (в 2,2–2,6 раза, $p < 0,05$) и калия (на 29,3%, $p < 0,05$), существенное увеличение циркулирующих провоспалительных цитокинов преимущественно за счет IL-1 β . Фаза регенерации и образования грануляционной ткани (14 сут.) характеризовалась сокращением площади раны (на 24%, $p < 0,05$), снижением объема раневого отделяемого, оте-

ка мягких тканей зоны повреждения. Уровень сывороточного миоглобина снижался, оставаясь в 1,6–2,2 раза ($p < 0,05$) выше значений у интактных крыс. Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови уменьшалось, оставаясь достоверно выше исходных значений. Наибольшее снижение отмечено при оценке уровня IL-6 (на 25%, $p < 0,05$). В фазу эпителизации и реорганизации рубца (28 сут.) на поверхности раны располагался небольшой струп. Содержание сывороточного IL-1 β оставалось на 34,2% ($p < 0,05$) выше значений интактных животных на фоне нормализации уровня циркулирующих IL-6 и TNF- α . Концентрация IL-10 достигала максимальных значений относительно контроля (в 3,9 раза, $p < 0,05$) к исходу 14 сут. после травмы с последующим снижением (в 2,3 раза, $p < 0,05$) к периоду формирования рубца.

Заключение. При экспериментальной взрывной ране мягких тканей конечности у крыс происходит разрушение мягких тканей с формированием дисбаланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на протяжении всех фаз раневого процесса.

Ключевые слова: взрывная рана, рабдомиолиз, цитокины, системный воспалительный ответ.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования

Собственные средства.

Для цитирования:

Шулепов А.В., Шперлинг М.И., Юркевич Ю.В., Шперлинг Н.В., Минаева Л.В. Системная воспалительная реакция при экспериментальной взрывной ране. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022; 7(3): 8-16. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-8-16>

*Корреспонденцию адресовать:

Шулепов Александр Васильевич, 195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4, E-mail: soash@mail.ru

© Шулепов А.В. и др.

ORIGINAL RESEARCH

SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE IN RATS WITH BLAST INJURY

ALEXANDER V. SHULEPOV^{1*}, MAXIM I. SHPERLING², YURI V. YURKEVICH¹, NATALIA V. SHPERLING¹, LYUBOV V. MINAEVA²¹Research Institute for Military Medicine, St. Petersburg, Russian Federation²Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract

Aim. To evaluate the temporal changes in circulating cytokines rallying systemic inflammatory response after a blast injury.

Material and Methods. Experiments were performed on 60 male Wistar rats (50 rats with blast-related soft tissue injury of the thigh and 10 intact rats). Blast injury was modeled under general anaesthesia using grater firecrackers stuffed with a pyrotechnic mixture. After 3, 7, 14 and 28 days post injury, we carried out a gross examination of the wound and its drainage, measured wound area, assessed local oedema severity, and evaluated serum potassium, myoglobin TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-10.

Results. Three to seven days post injury, there was abundant serous and purulent exudate and pronounced local edema without considerable changes in the wound area. Serum myoglobin and potassium were raised 2.2-2.6-fold and 1.3-fold, respectively ($p < 0.05$); in addition, we documented the elevation of a major pro-inflammatory cytokine IL-1 β . Fourteen days post injury, wound area reduced by 24%, ($p < 0.05$) along with the decreased wound drainage and local edema of the in-

jured area. Although the levels of serum myoglobin and pro-inflammatory cytokines (in particular IL-6) lowered, they were still significantly higher as compared with the intact rats. Twenty eight days post injury, fibrosis has been completed, epithelialization occurred and only a small scab remained on the wound surface. Yet, serum IL-1 β still was 1.3-fold higher than in the intact animals ($p < 0.05$), albeit IL-6 and TNF- α returned to the reference values. The concentration of anti-inflammatory cytokine IL-10 reached its maximum values relative to the control (3.9-fold, $p < 0.05$) to the 14th day post injury that was followed by a considerable reduction (though not reaching the reference values) by the period of scar formation.

Conclusion. Blast injury in rats is accompanied by a dysregulated balance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines throughout all regeneration phases.

Keywords: explosive wound, rhabdomyolysis, cytokines, systemic inflammatory response.

Conflict of Interest

None declared.

Funding

There was no funding for this project.

◀ English

For citation:

Alexander V. Shulepov, Maxim I. Shperling, Yuri V. Yurkevich, Natalia V. Shperling, Lyubov V. Minaeva. Systemic inflammatory response in rats with explosive wound. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2022;7(3): 8-16. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-8-16>

***Corresponding author:**

Dr. Alexander V. Shulepov, 4, Lesoparkovaya Street, Saint-Petersburg, 195043, Russian Federation, E-mail: soash@mail.ru

© Alexander V. Shulepov, et al.

Введение

Взрывная рана является проявлением взрывной травмы (МКБ-10: Y36.2, Y36.8), возникающей при воздействии на ткани различных факторов взрыва. В области взрывной раны возникают множественные разрывы сухожилий, мышц, фасций и кожи, повреждение сосудов различного диаметра с формированием очаговых кровоизлияний. Ситуацию отягощает воз-

никающий перифокальный отек мягких тканей, который приводит к сужению кровеносных сосудов, их тромбозу с последующим развитием ишемии и некроза тканей [1, 2].

При любых повреждениях, в том числе взрывных, в ране развивается комплекс биохимических, морфологических и физиологических процессов, которые приводят к локальному изменению клеточного состава раны, на-

рушению микроциркуляции и обмена веществ. Высвобождение химических медиаторов воспаления усиливает локальную вазоконстрикцию, тромбообразование, что приводит к снижению перфузии тканей и развитию гипоксии с формированием ишемического некроза [3]. Молекулярные паттерны, высвобождаемые из поврежденных клеток, вызывают развитие синдрома раннего системного воспалительного ответа (SIRS), который характеризуется значительным увеличением в крови провоспалительных цитокинов [4, 5]. Цитокины поступают в системный кровоток из первичного очага воспаления, а при развитии SIRS и генерализации процесса – из органов, удаленных от первичного очага [6, 7]. Несмотря на ряд исследований, посвященных данной проблематике [8, 9], механизмы системной про- и противовоспалительной реакции в ответ на повреждение мягких тканей при взрывной ране остаются малоизученными, особенно в аспекте взаимосвязи с фазами раневого процесса. Четкое понимание причин формирования провоспалительного ответа на системном уровне при взрывной ране позволит производить их своевременную коррекцию в аспекте саногенеза путем широкого применения методов локального (местного) лечения.

Цель исследования

Оценить динамику уровня циркулирующих цитокинов с позиции системного воспалительного ответа в различные фазы раневого процесса при экспериментальной взрывной ране.

Материал и методы

Исследование выполнено на 60 половозрелых крысах-самцах линии Вистар возрастом 4-4,5 мес. и массой 320 ± 20 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область, Россия). Животные находились в карантине 14 сут. со свободным доступом к пище и воде. Исследование одобрено локальным Комитетом по этике ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ (протокол № 13 от 22.06.2020 г.). Все животные были разделены на 2 группы: основную ($n = 50$), которым наносили взрывную рану, и интактную ($n = 10$) – без травмы. Моделирование взрывной раны без перелома костей проводили по авторской методике с использованием терочных петард, начиненных пиротехнической смесью (патент РФ на изобретение № 2741238 от 22.01.2021). Перед нанесением взрывной раны

для общего обезболивания крысам внутримышечно вводили смесь зоветила и ксилазина по 10 мг/кг массы животного каждого препарата.

Динамическое наблюдение и оценку изучаемых показателей проводили через 3, 7, 14 и 28 сут после травмы и на момент заживления раны, что соответствовало фазам течения раневого процесса [10]: фаза воспаления (период сосудистых изменений и период очищения раны от некротических тканей – 3–7 сут), фаза регенерации, образования и созревания грануляционной ткани (7–14 сут), фаза реорганизации рубца и эпителизации (14–28 сут). В ходе исследования проводили оценку внешнего вида раны, характера отделяемого из нее. Площадь раны рассчитывали по формуле, предложенной J.I. Kundin [11]:

$$S = L \times W \times 0,785, \quad (1)$$

где S (см^2) – площадь раневого дефекта; L (см), W (см) – два перпендикулярных максимальных размеры раны.

Выраженность локального отека тканей определяли по длине окружности бедра в проекции его средней трети [12]. Значения выражали индексом отек/атрофия (усл. ед.) в виде соотношения длины окружности средней трети бедра поврежденной и контралатеральной конечности. Повышение индекса указывает на формирование отека мягких тканей в области повреждения, снижение – на их атрофию.

Для оценки выраженности деструкции скелетных мышц в сыворотке крови определяли: концентрацию миоглобина (нг/мл) методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с применением моноклональных антител (АО «Вектор-Бест», Россия) на автоматическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology, США) [13]; концентрацию калия (ммоль/л) турбодиметрическим методом с использованием набора Калий-Ольвекс (ООО «Ольвекс Диагностикум», Россия).

Выраженность системной воспалительной реакции оценивали по динамике в сыворотке крови уровня: провоспалительных цитокинов, в том числе фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-6 (IL-6); противовоспалительного цитокина – интерлейкина-10 (IL-10). Цитокины измеряли методом мультиплексного иммунного анализа на установке Bio-Plex (Bio-Rad Laboratories, USA, CA) с соответствующими наборами реагентов Bio-Plex Pro™ Rat Cytokine Th1/Th2 Assay [14]

Статистический анализ результатов исследования осуществляли с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2013 с последующей обработкой в среде программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Определение типа распределения данных проводили по критерию Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Переменные в исследуемых выборках представлены в виде медианы (Me), с 1-м и 3-м квартилями [Q_{25} ; Q_{75}]. Для определения статистической значимости различий между двумя сравниваемыми выборками использовали критерий Манна-Уитни, различия считали достоверными, если вероятность их тождества была менее 5% ($p < 0,05$).

Результаты

В течение всего эксперимента гибели животных не зарегистрировано.

Динамика заживления взрывной раны. Экспериментальная взрывная рана характеризовалась повреждением мягких тканей с формированием кожной раны площадью в среднем 6,6 [5,8; 7,6] cm^2 , которая в процессе заживления проходила все фазы раневого процесса. В ходе исследования имело место незначительное уменьшение площади раны к 3-м сут, что является результатом контракции кожи крысы за счет внутрикожных мышц, в ране наблюдалось скудное фибринозно-гнойное отделяемое. Через 7 сут отмечалось обильное гнойное раневое отделяемое серо-

го цвета с характерным запахом, площадь раны относительно исходных данных уменьшилась в среднем на 18% ($p=0,07$). На 14-е сут наблюдения раны очищались с формированием струпа, при этом площадь раны уменьшалась в среднем на 24% ($p=0,02$) относительно предыдущего срока наблюдения и на 42% ($p=0,009$) по сравнению с исходными значениями. К исходу 28-х сут в области повреждения сохранялся небольшой струп. Полное закрытие раневого дефекта наблюдалось на 30–32 сут наблюдения (таблица 1).

Динамика выраженности локального отёка тканей. Отёк тканей бедра у животных с взрывной раной развивался в ранние сроки после травмы. Длина окружности поврежденного бедра была увеличена на 25% ($p=0,02$) относительно значений контралатеральной (неповрежденной) конечности и имела максимальное значение на 3 сут эксперимента. К 7 сут длина окружности бедра несколько снижалась, оставаясь на 20% ($p=0,03$) выше значений окружности бедра до нанесения травмы. На 14-е сут длина окружности поврежденной конечности была сопоставима с её значением на контралатеральной конечности и не имела достоверных различий со значением у животных до нанесения взрывной раны. К исходу 28 сут отек мягких тканей не было, более того длина окружности бедра в средней трети была на 33% ($p=0,02$) меньше длины бедра интактных особей, что косвенно свидетельствовало о развитии посттравматической атрофии (таблица 1).

Показатели Parameters	Сроки наблюдения, сут Observation, days				
	Исходно Baseline	3	7	14	28
I_e , усл. ед. I_e , arb. units	1,01 [0,97; 1,04]	1,26* [1,23; 1,28]	1,21*,** [1,19; 1,22]	1,03** [1,02; 1,05]	0,68*,** [0,66; 0,71]
S , cm^2 S , cm^2	6,6 [5,8; 7,6]	5,7 [5,3; 6,6]	5,4 [5,0; 6,1]	3,8*,** [3,5; 4,3]	1,1*,** [0,8; 1,5]
	100%	86,4%	81,8%	57,6%	16,7%
Характер поверхности раны Wound drainage	–	Гнойное отделяемое Purulent exudate	Гнойное отделяемое Purulent exudate	Фибриновое отделяемое Fibrinous exudate	Струп Scab
n = 18					

Таблица 1.
Динамика показателей заживления экспериментальной взрывной раны мягких тканей бедра у крыс, Me [Q_{25} ; Q_{75}]

Table 1.
Temporal changes in healing parameters upon the blast-related soft tissue (thigh) injury in rats, median and interquartile range

Примечание. * $p < 0,05$ – различия достоверны по сравнению с исходными значениями; ** $p < 0,05$ – различия достоверны по сравнению с предыдущим сроком наблюдения; I_e – индекс отек/атрофия, усл. ед.; S – площадь раны, cm^2 ; n – количество животных; Me – медиана; Q_{25} ; Q_{75} – 1-й и 3-й квартили.

* $p < 0.05$ compared to baseline values; ** $p < 0.05$ compared to the previous time frame; I_e – edema/atrophy index, arb. units; S – wound area, cm^2 .

Таблица 2.

Динамика уровня продуктов рабдомиолиза в сыворотке крови у крыс с экспериментальной взрывной раной мягких тканей бедра, Ме [Q₂₅; Q₇₅]

Table 2.

Temporal changes in serum rhabdomyolysis products in rats upon the blast-related soft tissue (thigh) injury, median and interquartile range

Группы исследования <i>Study groups</i>	Сроки наблюдения, сут <i>Observation, days</i>	n	Показатели <i>Parameters</i>	
			Миоглобин, нг/мл <i>Myoglobin, ng/mL</i>	Калий, ммоль/л <i>Potassium, mmol/L</i>
Интактные животные <i>Intact animals</i>		110	77,5 [69,0; 90,0]	4,1 [3,8; 4,3]
Основная (взрывная рана) <i>Animals with blast injury</i> n = 32	3	88	198,7* [165,5; 231,3]	5,3* [4,9; 5,8]
	7	88	170,4* [142,4; 198,6]	4,1 [3,8; 4,4]
	14	88	125,5* [108,7; 143,4]	4,0 [3,6; 4,3]
	28	88	85,4** [69,5; 95,7]	3,9 [3,6; 4,3]

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны по сравнению с животными группы сравнения; ** $p < 0,05$ – различия достоверны по сравнению с предыдущим сроком наблюдения; n – количество животных; Ме – медиана; Q₂₅; Q₇₅ – 1-й и 3-й квартили.

* $p < 0.05$ compared to baseline values; ** $p < 0.05$ compared to the previous time frame

Динамика уровня продуктов рабдомиолиза (миоглобин, калий) в сыворотке крови. У животных с взрывной раной наблюдалось повышение уровня миоглобина крови в 2,2–2,6 раза ($p < 0,05$) в фазу воспаления (3–7 сут) относительно интактных особей. Максимальное значение сывороточного миоглобина составляло 198,7 [165,5; 231,3] нг/мл спустя 3 сут после травмы. К окончанию периода активной воспалительной фазы (7 сут) и в фазу регенерации, образования и созревания грануляционной ткани (14 сут) уровень миоглобина у крыс снижался, оставаясь повышенным в 1,6–2,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичным показателем у интактных животных. К исходу периода наблюдения (28 сут) содержание миоглобина в сыворотке крови восстанавливалось до значений у интактных крыс.

Однонаправленные изменения наблюдались в динамике концентрации калия в сыворотке крови. К 3-м сут эксперимента регистрировалось повышение концентрации калия на 29,3% ($p = 0,02$) по сравнению с его уровнем у интактных особей. В последующие сроки (7–28 сут) содержание калия в крови не имело различий с интактной группой (таблица 2).

Динамика концентрации цитокинов в сыворотке крови. Взрывная рана бедра с дефектом мягких тканей сопровождалась изменениями уровня циркулирующих провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (таблица 3).

В фазу воспаления (3–7 сут после нанесения взрывной раны) наблюдалось существенное повышение уровня провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α , IL-6). Наиболее выраженный прирост отмечался у провоспалительного медиатора IL-1 β : содержание в крови в 3,5 и 3,2 раза ($p < 0,05$) превышало значения у интактных животных. Изучение динамики уровня IL-6 показало выраженный рост его концентрации в крови в 1,8–2,2 раза ($p < 0,05$) на 3–7 сут по сравнению с контролем. Пиковые значения уровня TNF- α в сыворотке крови в эти сроки были менее выраженными по сравнению с содержанием в крови IL-1 β и IL-6, однако в 2,6–2,8 раза ($p < 0,05$) превышали показатель у животных группы сравнения.

В фазу регенерации, образования и созревания грануляционной ткани (спустя 14 сут после нанесения травмы) отмечалось снижение уровня сывороточных провоспалительных цитокинов по сравнению с его содержанием в фазу воспаления. Наибольшее снижение наблюдалось у IL-6 (на 24,7%, $p = 0,02$) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения (7 сут). В дальнейшем, к 28 сут концентрация провоспалительных цитокинов крови снижалась и для IL-6 и TNF- α достигала уровня значений интактных животных. Содержание IL-1 β , несмотря на его снижение относительно предыдущего периода, оставалось на 34,2% ($p = 0,01$) выше относительно значений у крыс в группе сравнения.

Группы исследования <i>Study groups</i>	Сроки наблюдения, сут <i>Observation, days</i>	n	Концентрация цитокинов в сыворотке крови, пг/мл/ <i>Serum cytokine levels, pg/mL</i>			
			IL-1 β	TNF- α	IL-6	IL-10
Интактные животные <i>Intact animals</i>		10	7,6 [7,2; 8,2]	6,5 [6,1; 6,8]	4,7 [4,2; 5,1]	3,3 [2,2; 4,1]
Основная (взрывная рана) <i>Animals with blast injury</i> n=32	3	8	26,5* [24,8; 29,2]	17,9* [16,3; 19,1]	10,4* [9,5; 11,2]	2,7 [2,2; 3,1]
	7	8	24,0* [21,9; 26,3]	16,7* (15,5; 18,2)	8,5*, ** [7,6; 9,1]	4,5** [4,1; 5,0]
	14	8	19,5*, ** [17,9; 21,5]	9,1*, ** [8,5; 9,9]	6,4*, ** [5,9; 6,9]	10,8*, ** [9,6; 12,6]
	28	8	10,2*, ** [9,1; 11,3]	6,6** [6,1; 7,3]	5,3 [4,9; 5,8]	7,5*, ** [6,9; 8,8]

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны по сравнению с животными группы сравнения; ** $p < 0,05$ – различия достоверны по сравнению с предыдущим сроком наблюдения; IL-1 β – интерлейкин-1 бета; TNF- α – фактор некроза опухоли альфа; IL-6 – интерлейкин-6; IL-10 – интерлейкин-10; n – количество животных; Me – медиана; Q25; Q75 – 1-й и 3-й квартили.

* $p < 0.05$ compared to baseline values; ** $p < 0.05$ compared to the previous time frame; IL-1 β – interleukin-1 β ; TNF- α – tumor necrosis factor alpha; IL-6 – interleukin-6; IL-10 – interleukin-10.

Таблица 3.

Динамика концентрации цитокинов в сыворотке крови у крыс с экспериментальной взрывной раной мягких тканей бедра, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Table 3.

Temporal changes in serum cytokines in rats upon the blast-related soft tissue (thigh) injury, median and interquartile range

Уровень противовоспалительного цитокина IL-10 в фазу воспаления (3–7 сут) оставался в пределах диапазона значений у интактных животных. Повышение IL-10 регистрировалось только в фазу регенерации (14 сут), превышая в 3,9 раза ($p=0,004$) значения у нетравмированных крыс. Спустя 28 сут после травмы содержание IL-10 снижалось, оставаясь в 2,3 раза ($p=0,007$) выше значений у интактных особей.

Обсуждение

Согласно современным представлениям, для раневого процесса характерно фазовое течение, последовательный переход одной фазы в другую, что в естественных условиях приводит к полному закрытию раневого дефекта с образованием рубца [15]. После нанесения взрывной раны наблюдались значительные разрушения мягких тканей, преимущественно скелетных мышц, которые на системном уровне проявлялись повышением в сыворотке крови миоглобина и калия, максимальные значения которых регистрировались на 3 сут после травмы. В ответ на повреждение формировался отек тканей преимущественно в фазу воспаления (3–7 сут), который был обусловлен экссудацией плазмы в перифокальные ткани, а также очаговыми кровоизлияниями. Биологическая роль экссудации заключается в доставке в ткань плазменных медиаторов (активных компонентов комплемента, кининов, факторов свертывающей

системы, ферментов плазмы), которые участвуют в лизисе микроорганизмов, привлечении лейкоцитов крови, стимуляции фагоцитоза, очищении раны и процессах репаративной регенерации [16]. Из поврежденных сосудов в область раны поступают клеточные элементы крови (тромбоциты, лейкоциты, эритроциты). Взаимодействуя с белками плазмы, они образуют тромбоцитарно-фибрилярный матрикс, а из α -гранул тромбоцитов высвобождаются ростовые факторы, в первую очередь тромбоцитарный фактор роста [17]. Гранулярные лейкоциты (гранулоциты) выделяют в поврежденные ткани биологические медиаторы, способствующие миграции в область раны моноцитов, макрофагов, Т-лимфоцитов, продуцирующих провоспалительные цитокины и хемокины [18]. При взрывной ране наблюдалось изменение баланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов с преобладанием провоспалительного профиля. Увеличение содержания циркулирующих цитокинов (IL-1 β , TNF- α , IL-6), преимущественно провоспалительного IL-1 β , в разгар фазы воспаления свидетельствовало о развитии системного воспалительного процесса. Высокое содержание TNF- α отражает выраженную неспецифическую воспалительную реакцию организма на травматическое повреждение мягких тканей и коррелирует с увеличением концентрации IL-6 в сыворотке крови. Несмотря на возникающий каскад патофизиологиче-

ских процессов в области повреждения, площадь взрывной раны существенно не изменялась.

По данным большинства исследователей, восстановление поврежденной ткани невозможно без взаимодействия процессов пролиферации, дифференцировки, миграции и синтетической активности клеток [19, 20]. По мере стихания воспалительного процесса в области взрывной раны (14 сут) регистрировалось уменьшение локального отека мягких тканей с восстановлением объема бедра к значениям у интактных животных, сокращалась площадь раневого дефекта в 1,7 раза ($p=0,009$) по сравнению с исходными размерами и формированием на поверхности раны плотного струпа. Содержание миоглобина и калия в фазу регенерации и образования грануляционной ткани (14 сут) снижалось и к началу фазы реорганизации рубца (28 сут) не имело достоверных различий с его значениями у интактных животных, что свидетельствовало о преобладании анаболических процессов в области взрывной раны над катаболическими. Концентрация провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α , IL-6) в сыворотке крови в фазу регенерации снижалась, а противовоспалительных (IL-10), наоборот, повышалась по сравнению с их уровнем в разгар воспалительного процесса. Эффекты противовоспалительных цитокинов были обусловлены, в основном, их способностью подавлять функциональную активность макрофагов, ингибировать продукцию провоспалительных цитокинов моноцитами и макрофагами, повышать пролиферативную и секреторную активность лимфоцитов [21]. Отмечено, что компенсаторный противовоспалительный ответ осуществляется IL-4 и IL-10, способными подавлять продукцию IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 [22]. Смещение баланса циркулирующих цитокинов в сторону повышения IL-10 при заживлении ВР может рассматриваться как супрессорная реакция иммунной системы, характеризующаяся развитием тормозящих влияний на процесс регенерации поврежденной скелетной мышечной ткани [23].

Весь спектр исследуемых показателей при взрывной ране имел умеренные отклонения от

нормальных значений, в то время как при продолжительной ишемии конечности эти значения были выше в 4–5 раз [12]. Повреждения ишемического генеза приводят к более выраженной и продолжительной воспалительной реакции в очаге повреждения с пиком основных маркеров воспаления на 7 сут, что обусловлено значительной цитокинемией и большой площадью разрушения скелетных мышц [24]. Полного восстановления профиля циркулирующих цитокинов при ишемических повреждениях, в отличие от взрывной раны к началу фазы реорганизации рубца не наблюдалось, что свидетельствует о хроническом течении воспалительного процесса [25].

Таким образом, особенностями взрывной раны являются: во-первых, умеренная деструкция мягких тканей, проявляющаяся невыраженным увеличением концентрации миоглобина и калия в сыворотке крови, повышением профиля провоспалительных цитокинов преимущественно в ранние сроки после травмы (3 сут); во-вторых, полное восстановление уровня сывороточного миоглобина и провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α , IL-6) к значениям у интактных животных уже к 28 сут; в-третьих, слабо выраженным противовоспалительным иммунным ответом (IL-10).

Заключение

При экспериментальной взрывной ране мягких тканей конечности у крыс происходит разрушение мягких тканей с формированием дисбаланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на протяжении всех фаз раневого процесса. В фазу воспаления (до 7 сут) регистрируется повышение содержания циркулирующих провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α , IL-6) с высоким уровнем IL-1 β . В фазы регенерации, образования и созревания грануляционной ткани (7–14 сут) и реорганизации рубца и эпителизации (14–28 сут) баланс циркулирующих цитокинов смещается в сторону повышения противовоспалительного цитокина IL-10, что отражает формирование супрессорного компенсаторно-противовоспалительного ответа, способствующего замедлению регенерации.

Литература :

1. Попов В.Л. Некоторые теоретические проблемы судебно-медицинской экспертизы взрывной травмы. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2015;58(4):4-10.
2. Айдаров В.И., Малеев М.В., Красильников В.И., Хасанов Э.Р. Экстренная неотложная помощь пострадавшим от взрывных поражений. *Практическая медицина*. 2019;17(6):6-9 <https://doi.org/10.32000/2072-1757-2019-6-6-9>
3. Козлов В.И., Азизов Г.А., Гурова О.А. Клинико-морфологические аспекты изучения расстройств микроциркуляции. *Морфология*. 2014;145(3):95-96.
4. Relja B, Mörs K, Marzi I. Danger signals in trauma. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018;44(3):301-316. <https://doi.org/10.1007/s00068-018-0962-3>
5. Xu P, Wang F, Zhou XL, Li L, Xiong D, Yong YQ, Zhao Y, Jiang WX.

- Systemic Inflammatory Response and Multiple Organ Dysfunctions Following Crush Injury: a New Experimental Model in Rabbits. *Inflammation*. 2018;41(1):240-248. <https://doi.org/10.1007/s10753-017-0683-5>
6. Гусев Е.Ю., Зотова Н.В. Патогенез и прогноз критических осложнений политравмы с позиции общепатологических процессов. *Политравма*. 2021;1:97-116. <https://doi.org/10.24411/1819-1495-2021-10014>
 7. Gaballah MH, Horita T, Takamiya M, Yokoji K, Fukuta M, Kato H, Aoki Y. Time-Dependent Changes in Local and Serum Levels of Inflammatory Cytokines as Markers for Incised Wound Aging of Skeletal Muscles. *Tohoku J Exp Med*. 2018;245(1):29-35. <https://doi.org/10.1620/tjem.245.29>
 8. Manson J, Thiemermann C, Brohi K. Trauma alarmins as activators of damage-induced inflammation. *Br J Surg*. 2012;99(1):12-20. <https://doi.org/10.1002/bjs.7717>
 9. Gupta AK, Ansari A, Gupta N, Agrawal H, B M, Bansal LK, Durga C. Evaluation of risk factors for prognosticating blunt trauma chest. *Pol Przegl Chir*. 2021;94(1):12-19. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0015.0427>
 10. Раны и раневая инфекция. Под ред. М.И. Кузин, Б.М. Костюченко. 2-е изд., перераб. и доп. Москва : Медицина, 1990. 591 с.
 11. Савченко Ю.П., Федосов С.Р. Методы определения размеров раневой поверхности. *Вестник хирургии*. 2007;166(1):102-104.
 12. Шулепов А.В., Шперлинг И.А., Юркевич Ю.В., Шперлинг Н.В., Васильев С.Б. Профиль циркулирующих цитокинов в аспекте системного воспаления при продолжительной статической компрессии мягких тканей в эксперименте. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2022;12(1):61-68. <https://doi.org/10.37279/2224-6444-2022-12-1-61-68>
 13. Lindsay A, Healy J, Mills W, Lewis J, Gill N, Draper N, Gieseg SP. Impact-induced muscle damage and urinary pterins in professional rugby: 7,8-dihydroneopterin oxidation by myoglobin. *Scand J Med Sci Sports*. 2016;26(3):329-337. <https://doi.org/10.1111/sms.12436>
 14. Riteau N, Gombault A, Couillin I. Assessment of inflammasome activation by cytokine and danger signal detection. *Methods Mol Biol*. 2016;1417:63-74. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3566-6_3
 15. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev*. 2019;99(1):665-706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>
 16. Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Афанасьева Г.А., ПолUTOва Н.В. Местные отеки. Этиология, патогенез процессов экссудации и транссудации. *Научное обозрение. Медицинские науки*. 2016;1:69-73. <https://science-medicine.ru/ru/article/view?id=874>
 17. Qiu Y, Brown AC, Myers DR, Sakurai Y, Mannino RG, Tran R, Ahn B, Hardy ET, Kee MF, Kumar S, Bao G, Barker TH, Lam WA. Platelet mechanosensing of substrate stiffness during clot formation mediates adhesion, spreading, and activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(40):14430-14435. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322917111>
 18. Wu X, Zhang G, Wang X, Zhang P, Tan Y. Endotoxin tolerance induction in human periodontal ligament fibroblasts stimulated with different bacterial lipopolysaccharides. *Arch Oral Biol*. 2015;60(3):463-470. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.10.005>
 19. Walmsley GG, Maan ZN, Wong VW, Duschler D, Hu MS, Zielins ER, Wearda T, Muhonen E, McArdle A, Tevlin R, Atashroo DA, Senarath-Yapa K, Lorenz HP, Gurtner GC, Longaker MT. Scarless wound healing: chasing the holy grail. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(3):907-917. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000000972>
 20. Kosaraju R, Rennert RC, Maan ZN, Duschler D, Barrera J, Whittam AJ, Januszyn M, Rajadas J, Rodrigues M, Gurtner GC. Adipose-Derived Stem Cell-Seeded Hydrogels Increase Endogenous Progenitor Cell Recruitment and Neovascularization in Wounds. *Tissue Eng Part A*. 2016;22(3-4):295-305. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2015.0277>
 21. Islam H, Jackson GS, Yoon JSJ, Cabral-Santos C, Lira FS, Mui AL, Little JP. Sex differences in IL-10's anti-inflammatory function: greater STAT3 activation and stronger inhibition of TNF- α production in male blood leukocytes ex vivo. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2022;322(6):1095-C1104. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00091.2022>
 22. Zhou X, Zhang Z, Jiang W, Hu M, Meng Y, Li W, Zhou X, Wang C. Naringenin is a Potential Anabolic Treatment for Bone Loss by Modulating Osteogenesis, Osteoclastogenesis, and Macrophage Polarization. *Front Pharmacol*. 2022;13:872188. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.872188>
 23. Fujioka K, Kishida T, Ejima A, Yamamoto K, Fujii W, Murakami K, Seno T, Yamamoto A, Kohno M, Oda R, Yamamoto T, Fujiwara H, Kawahito Y, Mazda O. Inhibition of osteoclastogenesis by osteoblast-like cells genetically engineered to produce interleukin-10. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;456(3):785-791. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.12.040>
 24. Tekşen Y, Kadioğlu E, Koçak C, Koçak H. Effect of Hydrogen Sulfide on Kidney Injury in Rat Model of Crush Syndrome. *J Surg Res*. 2019;235:470-478. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2018.10.033>
 25. Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Юркевич Ю.В., Кузьмина О.Ю., Арутюнян А.А., Заргарова Н.И. Самогенетические и фармакологические эффекты локального применения гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме мягких тканей. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020;10(2):53-60.

References:

1. Popov VL. Certain theoretical-methodological problems of forensic medical expertise of the blast injury. *Forensic medical expertise / Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2015;58(4):4-10. (In Russ). <https://doi.org/10.17116/sudmed2015.5844-10>
2. Aydarov VI, Maleev MV, Krasilnikov VI, Khasanov ER. Emergency care for victims of explosions. *Practical Medicine*. 2019;17(6):6-9. (In Russ). <https://doi.org/10.32000/2072-1757-2019-6-6-9>
3. Kozlov VI, Azizov GA, Gurova OA. Clinical and morphological aspects of the study blood microcirculation disturbances. *Morphology*. 2014;145(3):95-96. (In Russ).
4. Relja B, Mörs K, Marzi I. Danger signals in trauma. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018;44(3):301-316. <https://doi.org/10.1007/s00068-018-0962-3>
5. Xu P, Wang F, Zhou XL, Li L, Xiong D, Yong YQ, Zhao Y, Jiang WX. Systemic Inflammatory Response and Multiple Organ Dysfunctions Following Crush Injury: a New Experimental Model in Rabbits. *Inflammation*. 2018;41(1):240-248. <https://doi.org/10.1007/s10753-017-0683-5>
6. Gusev EYu, Zotova NV. Pathogenesis and prediction of critical complications of polytrauma from the position of common pathological processes. *Polytrauma*. 2021;1:97-116. (In Russ). <https://doi.org/10.24411/1819-1495-2021-10014>
7. Gaballah MH, Horita T, Takamiya M, Yokoji K, Fukuta M, Kato H, Aoki Y. Time-Dependent Changes in Local and Serum Levels of Inflammatory Cytokines as Markers for Incised Wound Aging of Skeletal Muscles. *Tohoku J Exp Med*. 2018;245(1):29-35. <https://doi.org/10.1620/tjem.245.29>
8. Manson J, Thiemermann C, Brohi K. Trauma alarmins as activators of damage-induced inflammation. *Br J Surg*. 2012;99(1):12-20. <https://doi.org/10.1002/bjs.7717>
9. Gupta AK, Ansari A, Gupta N, Agrawal H, B M, Bansal LK, Durga C. Evaluation of risk factors for prognosticating blunt trauma chest. *Pol Przegl Chir*. 2021;94(1):12-19. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0015.0427>
10. Kuzin MI, Kostyuchenok BM. *Rany i ranevaya infektsiya*. 2-е изд, перераб и доп. Moscow : Medicine; 1990. 591 s. (In Russ).]
11. Savchenko YuP, Fedosov SR. Methods of determination of sizes of the wound surface. *Grekov's bulletin of surgery*. 2007;66(1):102-104. (In Russ).
12. Shulepov AV, Shperling IA, Yurkevich YuV, Shperling NV, Vasil'ev SB. Profile of circulating cytokines in the aspect of systemic inflammation with a prolonged static compression of soft tissue in the experiment. *Crimean journal of experimental and clinical medicine*. 2022;12(1):61-68. (In Russ). <https://doi.org/10.37279/2224-6444-2022-12-1-61-68>
13. Lindsay A, Healy J, Mills W, Lewis J, Gill N, Draper N, Gieseg SP. Impact-induced muscle damage and urinary pterins in professional rugby: 7,8-dihydroneopterin oxidation by myoglobin. *Scand J Med Sci Sports*. 2016;26(3):329-337. <https://doi.org/10.1111/sms.12436>
14. Riteau N, Gombault A, Couillin I. Assessment of inflammasome activation by cytokine and danger signal detection. *Methods Mol Biol*. 2016;1417:63-74. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3566-6_3
15. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev*. 2019;99(1):665-706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>

16. Chesnokova NP, Morrison VV, Afanas'yeva GA, Polutova NV. Mestnyye oteki. Etiologiya, patogenez protsessov eksudatsii i trassudatsii. *Scientific review Medical sciences*. 2016;1:69-73. (In Russ). <https://science-medicine.ru/ru/article/view?id=874>
17. Qiu Y, Brown AC, Myers DR, Sakurai Y, Mannino RG, Tran R, Ahn B, Hardy ET, Kee MF, Kumar S, Bao G, Barker TH, Lam WA. Platelet mechanosensing of substrate stiffness during clot formation mediates adhesion, spreading, and activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(40):14430-14435. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322917111>
18. Wu X, Zhang G, Wang X, Zhang P, Tan Y. Endotoxin tolerance induction in human periodontal ligament fibroblasts stimulated with different bacterial lipopolysaccharides. *Arch Oral Biol*. 2015;60(3):463-470. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.10.005>
19. Walmsley GG, Maan ZN, Wong VW, Duschler D, Hu MS, Zielins ER, Wearda T, Muhonen E, McArdle A, Tevlin R, Atashroo DA, Senarath-Yapa K, Lorenz HP, Gurtner GC, Longaker MT. Scarless wound healing: chasing the holy grail. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(3):907-917. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000000972>
20. Kosaraju R, Rennert RC, Maan ZN, Duschler D, Barrera J, Whittam AJ, Janusz M, Rajadas J, Rodrigues M, Gurtner GC. Adipose-Derived Stem Cell-Seeded Hydrogels Increase Endogenous Progenitor Cell Recruitment and Neovascularization in Wounds. *Tissue Eng Part A*. 2016;22(3-4):295-305. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2015.0277>
21. Islam H, Jackson GS, Yoon JSJ, Cabral-Santos C, Lira FS, Mui AL, Little JP. Sex differences in IL-10's anti-inflammatory function: greater STAT3 activation and stronger inhibition of TNF- α production in male blood leukocytes ex vivo. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2022;322(6):1095-C1104. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00091.2022>
22. Zhou X, Zhang Z, Jiang W, Hu M, Meng Y, Li W, Zhou X, Wang C. Naringenin is a Potential Anabolic Treatment for Bone Loss by Modulating Osteogenesis, Osteoclastogenesis, and Macrophage Polarization. *Front Pharmacol*. 2022;13:872188. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.872188>
23. Fujioka K, Kishida T, Ejima A, Yamamoto K, Fujii W, Murakami K, Seno T, Yamamoto A, Kohno M, Oda R, Yamamoto T, Fujiwara H, Kawahito Y, Mazda O. Inhibition of osteoclastogenesis by osteoblast-like cells genetically engineered to produce interleukin-10. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;456(3):785-791. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.12.040>
24. Tekşen Y, Kadioğlu E, Koçak C, Koçak H. Effect of Hydrogen Sulfide on Kidney Injury in Rat Model of Crush Syndrome. *J Surg Res*. 2019;235:470-478. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2018.10.033>
25. Shperling IA, Shulepov AV, Shperling NV, Yurkevich YV, Zargaro-va NI, Kuzmina OYu, Arutyunyan AA. Sanogenetic and pharmacological effects of local application of hyaluronic acid in experimental soft tissue compression trauma. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny*. 2020;10(2):53-60. (In Russ). <https://doi.org/10.37279/2224-6444-2020-10-2-53-60>

Сведения об авторах

Шулепов Александр Васильевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4).

Вклад в статью: подготовка и редактирование текста.

ORCID: 0000-0002-6134-809X

Шперлинг Максим Игоревич, клинический ординатор первой кафедры терапии усовершенствования врачей ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лебедева, д. 6, лит. Ж).

Вклад в статью: проведение исследования.

ORCID: 0000-0002-3274-2290

Юркевич Юрий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4).

Вклад в статью: разработка концепции статьи.

ORCID: 0000-0002-9385-7104

Шперлинг Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4).

Вклад в статью: утверждение окончательного варианта статьи.

ORCID: 0000-0002-7865-486X

Минаева Любовь Валерьевна, кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лебедева, д. 6, лит. Ж).

Вклад в статью: проведение исследования.

ORCID: 0000-0001-8049-7341

Authors

Dr. Alexander V. Shulepov, MD, PhD, Research Fellow, Research Institute for Military Medicine (4, Lesoparkovaya Street, St. Petersburg, 195043, Russian Federation).

Contribution: wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0002-6134-809X

Dr. Maxim I. Shperling, MD, Resident, First Department (Advanced Medical Training Therapy), Military Medical Academy (6, lit. G, Lebedeva Street, St. Petersburg, 194044, Russian Federation).

Contribution: conducted the experiments.

ORCID: 0000-0002-3274-2290

Prof. Yuri V. Yurkevich, MD, DSc, Professor, Senior Research Fellow, Research Institute for Military Medicine (4, Lesoparkovaya Street, St. Petersburg, 195043, Russian Federation).

Contribution: conceived and designed the study.

ORCID: 0000-0002-9385-7104

Dr. Natalia V. Shperling, MD, DSc, Senior Research Fellow, Research Institute for Military Medicine (4, Lesoparkovaya Street, St. Petersburg, 195043, Russian Federation).

Contribution: wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0002-7865-486X

Dr. Lyubov V. Minaeva, MD, PhD, Senior Lecturer, Department of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Military Medical Academy (6, lit. G, Lebedeva Street, St. Petersburg, 194044, Russian Federation).

Contribution: conducted the experiments.

ORCID: 0000-0002-8049-7341

Статья поступила: 06.07.2022г.

Принята в печать: 31.08.2022г

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Received: 06.07.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.