

УДК 616-001.4-002:616-003.93:616.16
DOI: 10.24884/1682-6655-2022-21-2-43-50

Т. С. КИРИЯЗИ, А. В. ЕРМАКОВ, А. А. САВКИНА,
Е. В. ЛЕНГЕРТ, Т. В. СТЕПАНОВА, Д. Д. ЛОЙКО,
Н. А. КУЗНЕЦОВА, А. Н. ИВАНОВ

Влияние микрокамерных раневых покрытий на динамику микроциркуляторных реакций в зоне полнослойного дефекта кожи у белых крыс

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Саратов, Россия
410012, Россия, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112
E-mail: lex558452@rambler.ru

Статья поступила в редакцию 05.03.22 г.; принята к печати 14.05.22 г.

Резюме

Введение. Распространенность острых и хронических ран, как в России, так и за рубежом, остается на высоком уровне, что обуславливает актуальность совершенствования технологий их лечения. Технологии микро- и наноструктурирования синтетических полимеров, в частности, полилактида, открывают новые возможности создания биodeградируемых покрытий, экспериментальная апробация которых представляет не только научный, но и практический интерес. **Цель** исследования – изучение влияния микрокамерных полилактидных биodeградируемых покрытий на изменение микроциркуляции в зоне полнослойного экспериментального дефекта кожи у белых крыс. **Материалы и методы.** Исследования проводились на 40 белых беспородных крысах, разделенных на три группы: контрольную (КОН, n=10), сравнительную (РДК) – 15 животных с полнослойным экспериментальным дефектом кожи, и опытную (ПМП) – 15 крыс, которым выполняли наложение микрокамерного полилактидного биodeградируемого покрытия. Раневые покрытия из полилактида (полимолочная кислота) в виде массивов микрокамер изготавливались на основе шаблона лунок микронного размера. На 7-е и 14-е сутки эксперимента у животных групп РДК и ПМК проводилась оценка площади раневого дефекта и микроциркуляции кожи краев экспериментальной раны методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). **Результаты.** На 7-е и на 14-е сутки после формирования экспериментального раневого дефекта в межлопаточной области у крыс отмечалось увеличение перфузии кожи краев раны на 26,9–27,8 %, сопровождающееся перераспределением вклада активных и пассивных механизмов модуляции микрокровотока, которое характеризовалось увеличением амплитуд колебаний перфузии в миогенном, дыхательном и сердечном диапазонах. Использование полилактидного покрытия для закрытия раневого дефекта ускоряло процесс эпителизации преимущественно на 1-й неделе эксперимента, а также уменьшало выраженность повышения перфузии кожи краев экспериментальной раны на 1-й неделе эксперимента и полностью нивелировало на 2-й. Снижение перфузии кожи краев экспериментальной раны под влиянием полилактидного покрытия у крыс сопровождалось уменьшением относительно группы РДК на 7-е сутки эксперимента амплитуды миогенных колебаний на 20 %, а на 14-е сутки – амплитуд дыхательных колебаний на 19,7 %. **Заключение.** Разработанные полилактидные покрытия уменьшают выраженность воспалительных изменений микроциркуляции краев экспериментального раневого дефекта, что в сочетании с ускорением эпителизации раны свидетельствует в пользу биосовместимости данного типа перевязочного материала.

Ключевые слова: микроциркуляция, биodeградируемые покрытия, регенерация

Для цитирования: Кириязи Т. С., Ермаков А. В., Савкина А. А., Ленгерт Е. В., Степанова Т. В., Лойко Д. Д., Кузнецова Н. А., Иванов А. Н. Влияние микрокамерных раневых покрытий на динамику микроциркуляторных реакций в зоне полнослойного дефекта кожи у белых крыс. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2022;21(2):43–50. Doi: 10.24884/1682-6655-2022-21-2-43-50.

T. S. KIRIIAZI, A. V. ERMAKOV, A. A. SAVKINA,
E. V. LENGERT, T. V. STEPANOVA, D. D. LOIKO,
N. A. KUZNETSOVA, A. N. IVANOV

The microchamber wound coatings effect on the microcirculatory reactions dynamics in the full-thickness skin defect area in white rats

Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Saratov, Russia
112, Bolshaya Kazachya str., Saratov, Russia, 410012
E-mail: lex558452@rambler.ru

Received 05.03.22; accepted 14.05.22

Summary

Introduction. The widespread occurrence of acute and chronic wounds in Russia and abroad determines the great relevance of improving the treatment technologies. The micro- and nanostructuring synthetic polymers (i. e., polylactide) open the new possibilities for creating biodegradable coatings having both scientific and applied interest. The *aim* of present study was to investigate how microchamber polylactide biodegradable coatings affects microcirculatory changes in the area of a full-thickness experimental skin defect in white rats. **Materials and methods.** The study was conducted on 40 white outbred rats, divided into 3 groups: control (CON, n=10), comparative (ESD) – 15 animals with a full-thickness experimental skin defect) and experimental (MPC) – 15 rats treated by a microchamber polylactide biodegradable coating on full-thickness experimental skin defect. Polylactide (polylactic acid) wound coatings in the form of microchambers arrays were fabricated based on a micron well pattern. On the 7th and 14th days of the experiment, in animals of the ESD and MPC groups, the area of the wound defect was measured and the skin microcirculation of the experimental wound edges was assessed by laser Doppler flowmetry (LDF). **Results.** On the 7th and 14th days after the experimental wound defect formation in the rats interscapular region an increase of the wound edges skin perfusion by 26.9–27.8 % was observed accompanied by an active and passive mechanisms role redistribution in microcirculatory modulation with increase of perfusion fluctuation in the myogenic, respiratory and cardiac ranges. Using the a polylactide coating for the wound defect closure accelerated the process of epithelialization mainly on the first week of the experiment and reduced the severity of the perfusion increase in the edges of the experimental wound in the first week and completely recovered normal perfusion level in the second week of the experiment. Perfusion decrease of the experimental skin wound edges under the influence of polylactide coating in rats was accompanied by decrease in the amplitude of myogenic oscillations on the 7th day of the experiment by 20 %, and decrease the amplitude of respiratory oscillations on the 14th day by 19.7 % compared to ESD group. **Conclusion.** The developed polylactide coatings reduce the severity of inflammatory changes in the microcirculation of the experimental wound edges. This reducing combined with the acceleration of wound epithelialization suggests that this type of dressing material is high biocompatible.

Keywords: microcirculation, biodegradable coatings, regeneration

For citation: Kiriiazi T. S., Ermakov A. V., Savkina A. A., Lengert E. V., Stepanova T. V., Loiko D. D., Kuznetsova N. A., Ivanov A. N. The microchamber wound coatings effect on the microcirculatory reactions dynamics in the full-thickness skin defect area in white rats. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2022;21(2):43–50. Doi: 10.24884/1682-6655-2022-21-2-43-50.

Введение

Распространенность острых и хронических ран, как в России, так и за рубежом, остается на высоком уровне, что обуславливает актуальность совершенствования технологий их лечения. Нарушения заживления ран могут сопровождаться различными осложнениями, включая раневую инфекцию, формирование гипертрофированных рубцов и келоидов. Указанные осложнения определяют медицинскую, а в ряде случаев и социальную значимость разработки методов стимуляции репаративных процессов при раневых дефектах кожи. В этой связи в настоящее время особое внимание уделяется использованию новых материалов для стимуляции заживления кожных ран. Согласно прогнозам Национальной программы медицинского страхования в США, ожидается, что к 2024 г. ежегодный объем рынка средств для ухода за ранами достигнет 15–22 млрд долларов [1].

Значительные изменения ухода за ранами стали возможными с развитием технологий обработки полимеров естественного и искусственного происхождения [2]. В качестве материала для создания раневых покрытий использовались различные природные полимеры, включая коллаген, хитозан, фибрин, желатин, гиалуроновую кислоту и шелк [3]. Синтетические полимеры обладают рядом преимуществ по сравнению с натуральными, включая дополнительные возможности модификации их механических свойств. Среди синтетических полимеров для создания раневых покрытий использовались полигликолид, полиэтиленгликоль, поликапролактон, полилактид и сополимеры молочной и гликолевой кислот [4, 5]. Особый интерес представляет полилактид – полимер, сочетающий оптимальные механические свойства, включая прочность, биodeградацию без токсичных продуктов и невысокую стоимость производства [6]. Согласно

современным данным литературы, использование гидрогелей и трехмерно организованных волокон способно ускорить заживление ран, а применение биodeградируемых полимеров для создания раневых покрытий позволяет избежать травматизации тканей при смене повязки [7]. Новые возможности для ускорения заживления раневых дефектов тканей открывают технологии микро- и наноструктурирования перевязочных материалов, что обуславливает актуальность апробации новых вариантов структурной организации биodeградируемых покрытий.

Естественное заживление ран включает в себя ряд последовательно сменяющих друг друга сложных процессов, включая гемостаз, воспаление, формирование и ремоделирование ткани [8]. Следует отметить, что сосудистое русло непосредственно вовлечено в реализацию всех стадий репаративных процессов, и в ряде случаев состояние кровотока определяет продолжительность и исход заживления кожной раны. В этой связи мониторинг реакций микроциркуляторного русла в процессе заживления кожной раны позволяет комплексно оценивать репаративные процессы [9].

При разработке полимерных раневых покрытий особое значение имеет выявление возможных негативных гистопатогенных эффектов, т. е. оценка их биосовместимости, наличие которой, в конечном итоге, определяет практическую применимость продукта [10]. При микро- и наноструктурировании синтетических полимеров биосовместимость разрабатываемой конструкции может отличаться от таковой у входящих в ее состав материалов, что обусловлено влиянием размеров отдельных составляющих и архитектоникой биodeградируемого изделия, а также технологическими особенностями его изготовления [11]. В этой связи возникает необходимость исследований *in vivo* микрокамерных покрытий на моделях полнослойной кожной раны у животных. Перспективным с точки зрения поставленной задачи является исследование микроциркуляции в зоне раневого дефекта, так как ранее было продемонстрировано, что реактивные изменения кожного кровотока при субкутанных имплантационных тестах могут выступать в качестве информативного критерия для оценки биосовместимости в динамике [12].

Целью работы являлось изучение влияния микрокамерных полилактидных биodeградируемых покрытий на изменение микроциркуляции в зоне полнослойного экспериментального дефекта кожи у белых крыс.

Материалы и методы исследования

Эксперимент выполнен на 40 белых крысах массой 250–320 грамм, распределенных случайным способом на три группы. В состав контрольной группы (КОН) были включены 10 интактных крыс, в группу сравнения (РДК) – 15 животных с полнослойным экспериментальным раневым дефектом кожи, которым не выполнялось наложение перевязочных материалов, а опытная группа (ПМП) содержала 15 крыс, которым выполняли наложение микрокамерного полилактидного биodeградируемого покрытия на всю область экспериментального дефекта кожи.

На протяжении всего исследования животные находились в стандартных условиях вивария в индивидуальных клетках. Для общей анестезии животным внутримышечно вводились Телазол (*Zoetis Inc*, Испания) в дозе 0,1 мл/кг и Ксиланит (ООО «Нита-Фарм», Россия) в дозе 1 мг/кг. При проведении экспериментов соблюдали этические принципы в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 г. и ее пересмотром в 1983 г., при работе с экспериментальными животными руководствовались требованиями приказа Министерства здравоохранения РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики». Исследование выполнено в соответствии с рекомендациями Этического комитета СГМУ (протокол № 1 от 07.09.2021 г.).

Моделирование полнослойного дефекта кожи осуществлялось хирургическим методом [13]. У животных групп РДК и ПМП после депиляции и антисептической обработки кожи в межлопаточной области с помощью квадратного трафарета 5 %-м йодом наносились контуры будущего раневого дефекта. По разметке с помощью скальпеля проводилось формирование полнослойного раневого дефекта размером 10×10 мм. Для того, чтобы избежать влияния анальгетиков на интенсивность воспалительного ответа, тонус сосудов и перфузию микроциркуляторного русла, в послеоперационном периоде дополнительного обезболивания не проводилось.

Для оценки динамики регенерации на 7-е и 14-е сутки эксперимента на зону раневого дефекта накладывали стерильную полимерную пленку, отмечали границы маркером, после чего проводили вычисление площади с помощью миллиметровой бумаги.

Раневые покрытия из полилактида (полимолочная кислота) в виде массивов полимерных микрорезервуаров (микрокамер) были изготовлены с применением шаблона с рельефом в виде лунок микронного размера по методике, изложенной в [14]. Площадь покрытия соответствовала размеру раневого дефекта и составляла порядка 1 см². Толщина стенок микрокамер покрытия составляла 0,3–0,5 мкм, горизонтальное сечение микрокамер покрытия имело форму квадрата со стороной 10 мкм, высота микроконтейнеров составляла 12 мкм. Массив микроконтейнеров был иммобилизован на подложке, образованной желатином толщиной 2 мм.

Для исследования микроциркуляции применяли методику лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), реализация которой выполнялась с помощью «ЛАКК-ОП» (Россия). ЛДФ у животных РДК и ПМП групп выполняли на 7-е и 14-е сутки эксперимента, располагая датчик анализатора на расстоянии 1 мм от верхнего края экспериментального дефекта. При выполнении работы оценивали перфузионный показатель и нормированные амплитуды колебаний перфузии в основных регуляторных частотных диапазонах, включая эндотелиальный, нейрогенный, миогенный, дыхательный и кардиальный [15]. Расчет амплитуд колебаний перфузии в указанных диапазонах реализован посредством вейвлет-анализа, нормированные значения определяли как соотношение абсолютной величины амплитуды осцилляций к утроенному среднеквадратическому отклонению перфузии.

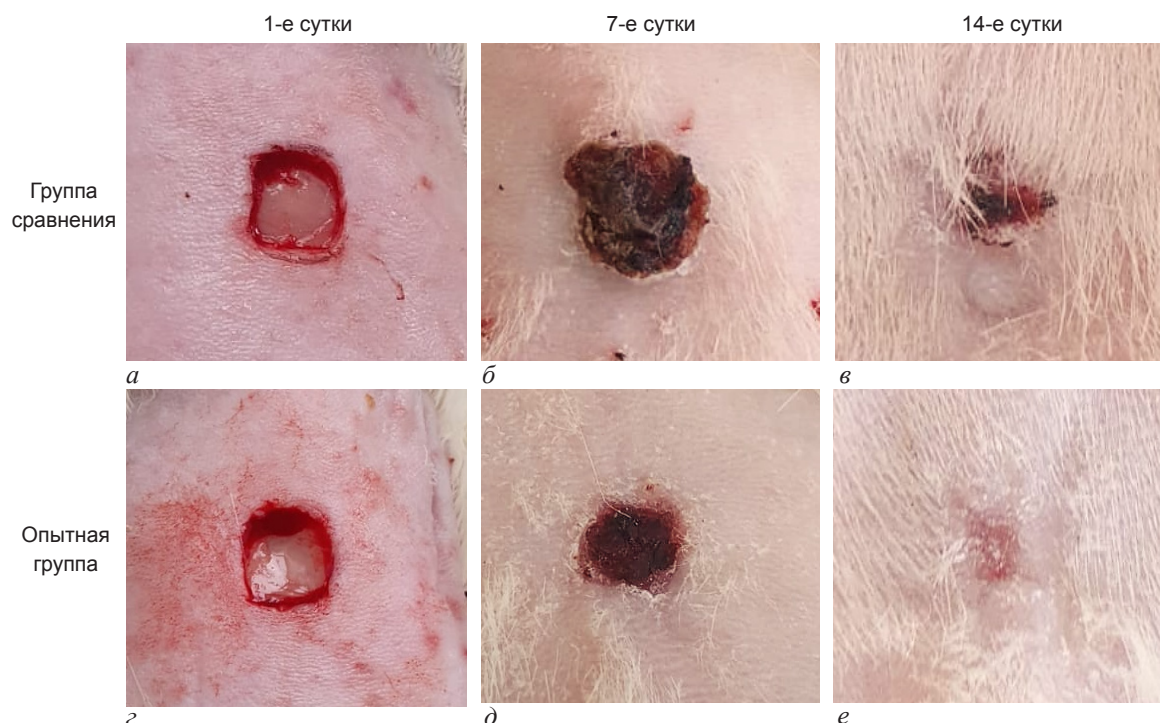


Рис. 1. Внешний вид раневого дефекта у животных групп РДК и ПМП в различные сроки эксперимента

Fig. 1. The wound defect in animals of the ESD and MPC groups at different time points of the experiment

Статистическую обработку данных проводили средствами пакета программ «Statistica 10». Большинство полученных при выполнении работы данных не имели нормального распределения, поэтому представлены в таблицах в виде медианы и интерквартильного размаха. Сравнение между группами проведено с помощью критерия Манна – Уитни. Критический уровень значений показателя достоверности принимали равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

На 7-е сутки эксперимента у крыс группы РДК отмечалось сокращение площади раневого дефекта, которая в среднем составила 32,3 (28; 46) мм² (рис. 1, а; б).

С помощью лазерной доплеровской флоуметрии установлено, что у крыс РДК группы на 7-е сутки эксперимента показатель перфузии кожи на границе раневого дефекта статистически значимо превышал значения КОН на 27,8 %. Повышение перфузии у крыс РДК группы сопровождалось изменением вклада механизмов ее активной и пассивной модуляции. При оценке активной модуляции перфузии выявлено статистически значимое, по сравнению с контролем, снижение амплитуд нормированных колебаний в эндотелиальном диапазоне на 56 % и, напротив, увеличение на 57 % в миогенном диапазоне. Значимых изменений относительно КОН нормированных нейрогенных колебаний перфузии кожи на границе раневого дефекта у крыс группы РДК через 1 неделю не выявлено. Через 1 неделю эксперимента у крыс РДК группы отмечено выраженное увеличение вклада пассивных механизмов модуляции кровотока кожи на границе раневого дефекта, что проявлялось статистически значимым увеличением относительно значений группы КОН нормированных амплитуды дыхательных колебаний на 45 %, а сердечных – в 4,3 раза (таблица).

К 14-м суткам площадь раны у животных РДК группы значимо ($p < 0,001$) уменьшалась по сравнению с 7-ми сутками и составляла 6,3 (5; 16) мм² (рис. 1, в). На 14-е сутки эксперимента у крыс группы РДК значимой динамики перфузии кожи и механизмов ее модуляции в зоне раневого дефекта, по сравнению 7-ми сутками эксперимента, не выявлено. На 14-е сутки эксперимента перфузия кожи на границе раневого дефекта у животных РДК группы увеличена относительно контроля на 26,9 %, а также отмечается увеличение нормированных амплитуд миогенных на 58 %, дыхательных – на 61 %, сердечных колебаний – в 4,9 раза и снижение нормированных амплитуд колебаний в эндотелиальном регуляторном диапазоне на 65 % (таблица).

Таким образом, у крыс группы РДК отмечалось выраженное увеличение перфузии кожи краев экспериментальной раны, сопровождающееся перераспределением вклада активных и пассивных механизмов модуляции микроциркуляции, которое характеризовалось увеличением амплитуд колебаний перфузии в миогенном, дыхательном и сердечном диапазонах и снижением в эндотелиальном. Указанные изменения носили стойкий характер и регистрировались с одинаковой степенью выраженности как на 7-е, так и на 14-е сутки эксперимента.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что у животных группы ПМП на 7-е сутки эксперимента площадь раны сокращалась в среднем до 23,4 (20; 36) мм² (рис. 1, г, д). Площадь раны у животных группы ПМП была меньше ($p = 0,008$), чем у крыс группы РДК (рис. 2).

Наложение полилактоидного раневого покрытия у крыс группы ПМП приводит к статистически значимому снижению перфузии кожи краев раны относительно таковой у животных группы РДК на 5,3 %. Вместе с тем у крыс ПМП группы на 7-е сутки эксперимента перфузионный показатель кожи краев

Изменения показателей микрокровоотока в зоне раневого дефекта у крыс групп РДК и ПМП

The changes of microcirculatory parameters of the wound area of the control and experimental groups

Параметр	Контроль (n=10)	Группа сравнения (n=15)		Опытная группа (n=15)	
		через 1 неделю	через 2 недели	через 1 неделю	через 2 недели
Показатель перфузии, пф. ед.	10,4 (9,6; 12,3)	13,3 (12,8; 14,1) $p_1 < 0,001$	13,2 (11,3; 14,1) $p_1 = 0,015$, $p_2 = 0,618$	12,6 (12,4; 13,5) $p_1 = 0,002$, $p_2 = 0,022$	11,4 (11,1; 11,7) $p_1 = 0,304$, $p_3 = 0,022$, $p_4 < 0,001$
Амплитуда эндотелиальных колебаний, усл. ед.	15,2 (11,5; 17,7)	6,6 (5,3; 6,9) $p_1 < 0,001$	5,3 (4,04; 6,1) $p_1 < 0,001$, $p_2 = 0,034$	5,2 (4,2; 6,2) $p_1 < 0,001$, $p_2 = 0,051$	4,9 (3,3; 5,3) $p_1 < 0,001$, $p_3 = 0,299$, $p_4 = 0,340$
Амплитуда нейрогенных колебаний, усл. ед.	6,8 (6,7; 8,2)	6,1 (5,8; 7,5), $p_1 = 0,063$	6,7 (5,4; 7,5) $p_1 = 0,157$, $p_2 = 0,868$	6,7 (5,9; 10,7) $p_1 = 0,802$, $p_2 = 0,184$	7,5 (6,9; 12,1) $p_1 = 0,212$, $p_3 = 0,034$, $p_4 = 0,198$
Амплитуда миогенных колебаний, усл. ед.	6,7 (5,9; 7,9)	10,5 (8,7; 11,2) $p_1 < 0,001$	10,6 (7,3; 11,6) $p_1 < 0,001$, $p_2 = 1$	8,4 (7,4; 9,5) $p_1 = 0,024$, $p_2 < 0,001$	9 (8,2; 12,1) $p_1 = 0,003$, $p_3 = 0,740$, $p_4 = 0,105$
Амплитуда дыхательных колебаний, усл. ед.	9,1 (7,9; 11,6)	13,2 (11,4; 16,2) $p_1 = 0,002$	14,7 (12,5; 18,8), $p_1 < 0,001$, $p_2 = 0,262$	14,5 (13,1; 18,7) $p_1 < 0,001$, $p_2 = 0,105$	11,8 (11,1; 15,1) $p_1 = 0,008$, $p_3 = 0,012$, $p_4 < 0,001$
Амплитуда сердечных колебаний, усл. ед.	3,8 (3,3; 4,7)	16,5 (13,1; 28,6) $p_1 < 0,001$	18,6 (16,4; 20,1), $p_1 < 0,001$, $p_2 = 0,480$	19,7 (16,3; 21,5), $p_1 < 0,001$, $p_2 = 0,455$	19,6 (17,9; 20,7), $p_1 < 0,001$, $p_3 = 0,361$, $p_4 = 0,740$

Примечание: p_1 – уровень значимости различий по сравнению с группой КОН; p_2 – уровень значимости различий относительно группы РДК через 1 неделю после формирования раневого дефекта; p_3 – уровень значимости различий относительно группы РДК через 2 недели после формирования раневого дефекта; p_4 – уровень значимости различий по сравнению с группой ПМП через 1 неделю после формирования раневого дефекта.

раны превышает уровень значений группы КОН на 21,1 %. У крыс ПМП группы через 7 суток после наложения раневого покрытия, так же как и в группе РДК, отмечается перераспределение вклада активных и пассивных механизмов модуляции кровотока, что проявляется значимым повышением нормированных амплитуд сердечных колебаний в 5,2 раза, дыхательных колебаний – на 59,3 %, миогенных колебаний – на 25 % и снижением нормированных амплитуд эндотелиальных колебаний на 65,7 % относительно значений группы КОН. При сопоставлении характеристик амплитудно-частотного спектра ЛДФ-грамм у крыс с раневым дефектом кожи на 7-е сутки эксперимента обнаружено, что наложение полилактонного покрытия вызывает значимое снижение величины нормированной амплитуды миогенных колебаний у животных опытной группы на 20 % относительно таковой в группе РДК. Различия параметров амплитуд колебаний в других регуляторных диапазонах у животных ПМП и РДК групп не выявлены (таблица).

Через 2 недели у 40 % животных ПМП группы кожная рана эпителизировалась полностью (рис. 1, е), площадь раны в группе в среднем составила 4,4 (0;10) мм². Полученные с помощью ЛДФ данные свидетельствуют, что у крыс ПМП группы на 14-е сутки отмечается снижение перфузионного показателя кожи краев раны на 9,5 %, по сравнению со значениями, зарегистрированными на 7-е сутки эксперимента.

Это сопровождается статистически значимым снижением нормированной амплитуды дыхательных колебаний на 18,6 %. Значимой динамики значений нормированных амплитуд эндотелиальных, нейрогенных, миогенных и сердечных колебаний в спектре ЛДФ-грамм у крыс ПМП группы в период с 7-х по 14-е сутки эксперимента не обнаружено. Следует отметить, что на 14-е сутки показатель перфузии кожи краев раны у животных ПМП группы находится в пределах вариабельности значений группы КОН. Вместе с тем на 14-е сутки эксперимента у животных ПМП группы отмечается увеличение нормированных амплитуд сердечных колебаний в 5,2 раза, дыхательных – на 29,6 %, миогенных – на 34,3 %, а также снижение величины нормированных колебаний в эндотелиальном диапазоне на 67,7 % относительно значений группы КОН. В ходе сравнительного анализа установлено, что на 14-е сутки показатель перфузии у крыс группы ПМП статистически значимо ниже на 13,6 %, чем у животных группы РДК. При сопоставлении параметров амплитудно-частотного спектра ЛДФ-грамм обнаружено, что у крыс группы ПМП нормированная амплитуда дыхательных колебаний на 19,7 % ниже, чем у крыс группы РДК. Значимых различий величин нормированных амплитуд колебаний в эндотелиальном, нейрогенном, миогенном и сердечном диапазонах у крыс групп ПМП и РДК на 14-е сутки после формирования раневого дефекта кожи не обнаружено (таблица).

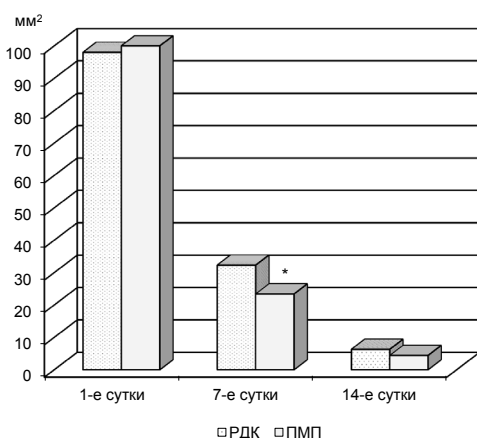


Рис. 2. Динамика заживления раневого дефекта у крыс групп РДК и ПМП: * – статистически значимые различия между группами

Fig. 2. Dynamics of wound defect healing in rats of the ESD and MPC groups: * – statistically significant differences between the groups

Таким образом, у крыс группы ПМП использование полилактидного покрытия ускоряет эпителизацию раны преимущественно в 1 неделю эксперимента. Повышение перфузии кожи краев экспериментальной раны, характерное для крыс группы РДК, у животных группы ПМП менее выражено на 1-й неделе эксперимента и полностью нивелируется на 2-й. Для крыс группы ПМП, так же как для животных группы РДК, характерно перераспределение вклада активных и пассивных механизмов модуляции микрокровотока, которое характеризовалось увеличением амплитуд колебаний перфузии в миогенном, дыхательном и сердечном диапазонах и снижением в эндотелиальном. На 14-е сутки эксперимента у крыс группы ПМП снижается нормированная амплитуда дыхательных колебаний, и ее величина меньше, чем у крыс группы РДК.

Полученные данные о темпах регенерации кожной раны у крыс соответствуют данным литературы, которые свидетельствуют, что полнослойный дефект кожи к 7-му дню эксперимента эпителизируется более чем на 50 %, а к 16-му дню – более чем на 90 % [16]. Вместе с тем результаты проведенного исследования свидетельствуют, что заживление кожной раны у крыс группы РДК до 14-х суток сопровождается выраженным изменением кровотока, проявляющимся повышением перфузии краев раневого дефекта. Это согласуется с данными других авторов, которые с помощью безметочной оптической когерентной томографии и оптической микроангиографии на модели полнослойного дефекта кожи продемонстрировали, что система микроциркуляции реагирует на раневое повреждение выраженной активацией коллатерального кровотока для кровоснабжения гипоксической области [9]. Повышение перфузии краев раневого дефекта может быть обусловлено, с одной стороны, воспалительными реакциями микроциркуляторного русла, а с другой – ангиогенными реакциями в ходе его ремоделирования. Так, известно, что при повреждении ткани кожи и мигрирующие в них лейкоциты выделяют широкий спектр провоспалительных цитокинов, ростовых факторов и активных форм кислорода, кроме того, формирование очага воспаления сопровождается гипоксией и ацидозом в тканях [17, 18]. В свою очередь, гипоксия, ацидоз

и провоспалительные цитокины вызывают снижение миогенного тонуса и дилатацию прекапиллярных сфинктеров, что выражается в увеличении амплитуд колебаний в миогенном диапазоне спектра ЛДФ-грамм [19]. Следовательно, обнаруженное увеличение амплитуд миогенных колебаний у крыс группы РДК на 7-е и 14-е сутки эксперимента следует расценивать как проявления индуцированной медиаторами воспаления дилатации прекапиллярных сфинктеров, которое может объяснять увеличение перфузии за счет повышения объема крови в нутритивном русле. При этом изменения пассивных механизмов модуляции перфузии кожи краев раневого дефекта у крыс группы РДК на 7-е и 14-е сутки эксперимента, проявляющиеся повышением сердечных и дыхательных колебаний в спектре ЛДФ-грамм, которые характеризуют усиление притока и затруднения оттока крови в микроциркуляторном русле соответственно [19], указывают на смешанный характер гиперемии. Следует также отметить, что воспалительная реакция и гипоксия тканей зоны раневого дефекта являются ключевыми индукторами ангиогенных реакций, лежащих в основе ремоделирования сосудистого русла [20].

В ходе выполнения работы обнаружено, что закрытие раневого дефекта полилактидным покрытием ускоряет процесс эпителизации преимущественно на 1-й неделе эксперимента. Это согласуется с результатами других авторов, демонстрирующими ускорение регенерации кожной раны под влиянием фибриллярных покрытий из полилактида [16]. Механизмы положительных эффектов полилактидных покрытий могут быть связаны, с одной стороны, со способностью к биodeградации, что позволяет обеспечить механическую защиту регенерирующих тканей без дополнительной травматизации, а с другой – способностью полилактида поддерживать пролиферацию фибробластов и стимулировать продукцию ими коллагена, что способствует сокращению площади раневого дефекта [16]. Вместе с тем следует отметить, что разработанное покрытие принципиально отличается от ранее предложенных микрокамерной, а не фибриллярной структурой, что обуславливает перспективы его использования в качестве лекарственного депо для пролонгированного высвобождения агентов, модулирующих процессы заживления. Ранее было продемонстрировано, что для фибриллярных полилактидных раневых покрытий основные подходы, используемые для загрузки лекарственными средствами, являются электроформование смешанного раствора, содержащего полимер(ы) и лекарство(а), или двойное электроформование отдельных растворов, содержащих лекарство [21]. Оба подхода имеют ряд ограничений по загрузке определенных лекарственных веществ, в частности, белковой природы. Технология создания массива микрокамер позволяет загружать их веществами при минимальном воздействии на само интегрируемое химическое соединение, что позволяет избежать изменения его структуры и (или) активности, а также дает возможность дозирования терапевтических соединений с точностью до 10 пг с высокой равномерностью по площади покрытия [14]. Следовательно, использование микрокамерных раневых покрытий открывает новые перспективы для новых лекарственных

депо, что обуславливает потенциал этого типа перевязочного материала для разработки технологии улучшения исходов заживления ран.

Результаты исследования микроциркуляции кожи краев раневого дефекта свидетельствуют, что наложение микрокамерного полилактидного покрытия не провоцирует воспалительных изменений микроциркуляции. Так, перфузия краев раны у животных группы ПМП ниже таковой в группе РДК на 7-е и на 14-е сутки эксперимента. При этом нормированные амплитуды миогенных колебаний у крыс группы ПМП на 7-е сутки эксперимента значимо ниже, а на 14-е сутки имеют тенденцию к уменьшению среднего значения относительно таковых в группе РДК. Отсутствие признаков увеличения перфузии и миогенных колебаний в тканях под влиянием полилактидного покрытия свидетельствует в пользу того, что оно биосовместимо [12] и не вызывает дополнительной продукции цитокинов и (или) альтерации тканей [19]. Уменьшение перфузии краев раны у крыс группы ПМП ассоциировано со снижением нормированных амплитуд дыхательных колебаний и не сопровождается значимым изменением нормированных амплитуд сердечных колебаний. Одной из причин снижения нормированных амплитуд дыхательных колебаний может являться улучшение венозного оттока крови из микроциркуляторного русла [19].

Ограничения исследования. При оценке результатов настоящей работы следует учитывать, что воспалительный процесс в качестве неотъемлемой составляющей репаративной регенерации представляет собой комплекс локальных сосудистых и тканевых реакций, а также системных проявлений. Настоящее исследование отражает только функциональные сосудистые изменения, возникающие при регенерации экспериментального дефекта кожи. Для преодоления данного ограничения необходимы дальнейшие исследования, включая морфологическую оценку тканевых реакций при заживлении раневого дефекта, а также биохимическую оценку системных проявлений воспалительного ответа.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют, что, как на 7-е, так и на 14-е сутки после формирования экспериментального раневого дефекта в межлопаточной области у крыс отмечалось увеличение перфузии кожи краев раны, сопровождающееся перераспределением вклада активных и пассивных механизмов модуляции микрокровотока, которое характеризовалось увеличением амплитуд колебаний перфузии в миогенном, дыхательном и сердечном диапазонах. Использование полилактидного покрытия для закрытия раневого дефекта уменьшает выраженность повышения перфузии кожи краев экспериментальной раны на 1-й неделе эксперимента и полностью нивелирует на 2-й. Снижение перфузии кожи краев экспериментальной раны под влиянием полилактидного покрытия у крыс сопровождалось частичной нормализацией амплитуд миогенных и дыхательных колебаний в спектре ЛДФ-грамм.

Таким образом, разработанные полилактидные покрытия уменьшают выраженность воспалитель-

ных изменений микроциркуляции краев экспериментального раневого дефекта, что в сочетании с ускорением эпителизации раны свидетельствует в пользу биосовместимости данного типа перевязочного материала.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России «Разработка микрокамерных раневых покрытий, обеспечивающих локальную модуляцию оксидативного гомеостаза тканей». / The study was performed in the framework of the state assignment of the «Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky» Ministry of Health of Russia «Development of microchamber wound dressings providing local modulation of tissue oxidative homeostasis».

Литература / References

1. Sen CK. Human Wounds and Its Burden: An Updated Compendium of Estimates // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2019;8(2):39–48. Doi: 10.1089/wound.2019.0946.
2. Agrawal P, Soni S, Mittal G, Bhatnagar A. Role of polymeric biomaterials as wound healing agents // *Int J Low Extrem Wounds*. 2014;13(3):180–190. Doi: 10.1177/1534734614544523.
3. Negut I, Dorcioman G, Grumezescu V. Scaffolds for Wound Healing Applications // *Polymers (Basel)*. 2020;12(9):2010. Doi: 10.3390/polym12092010.
4. Zhang J, Song C, Han Y, Xi Z, Zhao L, Cen L, Yang Y. Regulation of inflammatory response to polyglycolic acid scaffolds through incorporation of sodium tripolyphosphate // *Eur. Polym. J.* 2020;(122):109349. Doi: 10.1016/j.eurpolymj.2019.109349.
5. Joseph B, Augustine R, Kalarikkal N, Thomas S, Seantier B, Grohens Y. Recent advances in electrospun polycaprolactone based scaffolds for wound healing and skin bioengineering applications // *Mater. Today Commun.* 2019;(19):319–335. Doi.org/10.1016/j.mtcomm.2019.02.009.
6. Hamad K, Kaseem M, Yang HW, Deri F, Ko YG. Properties and medical applications of poly (lactic acid): A review // *Express Polym. Lett.* 2015;(9):435–455. Doi: 10.3144/express-polymlett.2015.42.
7. Radhakumary C, Antonty M, Sreenivasan K. Drug loaded thermoresponsive and cytocompatible chitosan based hydrogel as a potential wound dressing // *Carbohydr. Polym.* 2011;(83):705–713. Doi: 10.1016/j.carbpol.2010.08.042.
8. Wang X, Cheng F, Liu J, Smått JH, Gepperth D, Lastusaari M, Xu C, Hupa L. Biocomposites of copper-containing mesoporous bioactive glass and nanofibrillated cellulose: Biocompatibility and angiogenic promotion in chronic wound healing application // *Acta Biomater.* 2016;(46):286–298. Doi: 10.1016/j.actbio.2016.09.021.
9. Yousefi S, Qin J, Dziennis S, Wang RK. Assessment of microcirculation dynamics during cutaneous wound healing phases in vivo using optical microangiography // *J Biomed Opt.* 2014;19(7):76015. Doi: 10.1117/1.JBO.19.7.076015.
10. Thanusha AV, Koul V. Biocompatibility evaluation for the developed hydrogel wound dressing - ISO-10993-11 standards – in vitro and in vivo study // *Biomed Phys Eng Express*. 2021;8(1). Doi: 10.1088/2057-1976/ac3b2b.

11. Surmenev RA, Ivanov AN, Saveleva MS, Kiriazhi TS, Fedonnikov AS, Surmeneva MA. The effect of different sizes of cross-linked fibers of biodegradable electrospun poly(ϵ -caprolactone) scaffolds on osteogenic behavior in a rat model in vivo // *Journal of Applied Polymer Science*. 2022. Doi: 10.1002/app.52244.

12. Ivanov AN, Saveleva MS, Kozadaev MN, Matveeva OV, Sal'kovskiy YuE, Lyubun GP, Gorin DA, Norkin IA. New Approaches to Scaffold Biocompatibility Assessment // *BioNanoSci*. 2019;(9):395–405. Doi.org/10.1007/s12668-019-00613-3.

13. Смотровин С. М., Довнар Р. И., Васильков А. Ю. и др. Влияние перевязочного материала, содержащего наночастицы золота или серебра, на заживление экспериментальной раны // *Журнал Гроднен. гос. мед. ун-та*. – 2012. – № 1 (37). – С. 75–80. [Smotrinn SM, Dovnar RI, Vasilkov AYU, Prokopchik NI, Ioskevich NN. Influence of dressing material containing gold or silver nanoparticles on experimental wound healing // *Journal of Grodno State Medical University*. 2012;1(37):75–80. (In Russ.)].

14. Ermakov AV, Kudryavtseva VL Demina PA, Verkhovskii RA, Zhang J, Lengert EV, Sapelkin AV, Goryacheva IYu, Sukhorukov GB. Site-specific release of reactive oxygen species from ordered arrays of microchambers based on polylactic acid and carbon nanodots // *J. Mater. Chem. B*. 2020; (8):7977–7986. Doi: 10.1039/D0TB01148G.

15. Humeau A, Koitka A, Abraham P, Saumet JL, L'Huillier JP. Time-frequency analysis of laser Doppler flowmetry signals recorded in response to a progressive pressure applied locally on anaesthetized healthy rats // *Physics in Medicine and Biology*. 2004;49(5):843–857. Doi: 10.1088/0031-9155/49/5/014.

16. Bi H, Feng T, Li B, Han Y. In Vitro and In Vivo Comparison Study of Electrospun PLA and PLA/PVA/SA Fiber Membranes for Wound Healing // *Polymers (Basel)*. 2020; 12(4):839. Doi: 10.3390/polym12040839.

17. Wilgus TA., Roy S, McDaniel JC. Neutrophils and wound repair: Positive actions and negative reactions // *Adv. Wound Care*. 2013;(2):379–388. Doi: 10.1089/wound.2012.0383.

18. Kondo T, Ishida Y. Molecular pathology of wound healing // *Forensic Sci. Int*. 2010;(203):93–98. Doi: 10.1016/j.forsciint.2010.07.004.

19. Крупаткин А. И. Колебания кровотока – новый диагностический язык в исследовании микроциркуляции // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2014. – Т. 13, № 1 (49). – С. 83–99. [Krupatkin AI. Fluctuations in blood flow – a new diagnostic language in the study of microcirculation. *Regional blood circulation and microcirculation*. 2014;13(1(49)):83–99. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2014-13-1-83-99.

20. Иванов А. Н., Пучиньян Д. М., Норкин И. А. Роль эндотелиальных клеток в ангиогенезе // *Успехи соврем. биологии*. – 2016. – Т. 136, № 5. – С. 491–505. [Ivanov AN, Puchinyan DM, Norkin IA. The role of endothelial cells in angiogenesis // *Advances in modern biology*. 2016;136(5):491–505. (In Russ.)].

21. Toncheva A, Spasova M, Paneva D, Manolova N, Rashkov I. Polylactide (PLA)-Based Electrospun Fibrous Materials Containing Ionic Drugs as Wound Dressing Materials: A Review // *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2014;63(13):657–671. Doi: 10.1080/00914037.2013.854240.

Информация об авторах

Кириязи Татьяна Святославовна – кандидат биологических наук, доцент кафедры нормальной физиологии им. И. А. Чувеского, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов, Россия, e-mail: fev.6171@yandex.ru.

Ермаков Алексей Вадимович – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории,

ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов, Россия, e-mail: oualeksej@yandex.ru

Савкина Ангелина Альбертовна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов, Россия, e-mail: sawkina.ange@yandex.ru.

Ленгерт Екатерина Владимировна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов, Россия, e-mail: lengertkatrin@mail.ru.

Степанова Татьяна Вячеславовна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов, Россия, e-mail: cnil-sgmu@mail.ru.

Лойко Дарья Дмитриевна – ассистент кафедры нормальной физиологии им. И. А. Чувеского, младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов, Россия, e-mail: darya.lagutina@yandex.ru.

Кузнецова Наталья Анатольевна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов, Россия, e-mail: kuznetsova.ntalia@yandex.ru.

Иванов Алексей Николаевич – доктор медицинских наук, доцент, заведующий отделением лабораторной диагностики Научно-исследовательского института травматологии, ортопедии и нейрохирургии, зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией, зав. кафедрой нормальной физиологии им. И. А. Чувеского, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов, Россия, e-mail: lex558452@rambler.ru.

Authors information

Kiriyazi Tat'yana S. – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Normal Physiology named after I. A. Chuevsky, Senior Researcher of the Central Research Laboratory Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation, Saratov, Russia, e-mail: fev.6171@yandex.ru

Ermakov Alexey V. – Research Assistant of the Central Research Laboratory Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation, Saratov, Russia, e-mail: oualeksej@yandex.ru.

Savkina Angelina A. – Research Assistant of the Central Research Laboratory Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation, Saratov, Russia, e-mail: sawkina.ange@yandex.ru.

Lengert Ekaterina V. – Research Assistant of the Central Research Laboratory Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation, Saratov, Russia, e-mail: lengertkatrin@mail.ru

Stepanova Tat'yana V. – Research Assistant of the Central Research Laboratory Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation, Saratov, Russia, e-mail: cnil-sgmu@mail.ru.

Loiko Darya D. – Assistant of the Department of Normal Physiology named after I. A. Chuevsky, Laboratory Assistant of the Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation, Saratov, Russia, e-mail: darya.lagutina@yandex.ru.

Kuznetsova Natalya A. – Research Assistant of the Central Research Laboratory Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation, Saratov, Russia, e-mail: kuznetsova.ntalia@yandex.ru.

Ivanov Alexey N. – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Laboratory Diagnostics of Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Head of the Central Scientific Research Laboratory, Head of the Department of Normal Physiology named after I. A. Chuevsky of Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation, Saratov, Russia, e-mail: lex558452@rambler.ru.