

МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫЙ СТАТУС И МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТКАНЕЙ ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ АУТОЛОГИЧНОЙ ПЛАЗМЫ НА МОДЕЛИ ВЗРЫВНОЙ РАНЫ МЯГКИХ ТКАНЕЙ У КРЫС

А. В. Шулепов*, И. А. Шперлинг, Ю. В. Юркевич, Н. В. Шперлинг,
М. В. Виноградов, А. С. Коуров, П. А. Романов, С. Б. Васильев

*Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственный научно-исследовательский испытательный институт
военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации
ул. Лесопарковая, д. 4, в. Санкт-Петербург, 195043, Россия*

АННОТАЦИЯ

Введение. В настоящее время особый интерес представляет возможность локального применения аутологичной плазмы крови (АУП) при повреждениях мягких тканей.

Цель исследования — оценить эффекты околораневого (перифокального) введения АУП на показатели красной крови, микроциркуляцию и кислородное обеспечение мягких тканей конечности при экспериментальной взрывной ране (ВР) у крыс.

Методы. Моделирование ВР проводили на крысах-самцах линии Вистар ($n = 146$) с использованием петарды с пиротехнической смесью (патент RU № 2741238 от 22.01.2021). Животные были распределены на 4 группы: контрольные (2), сравнения (1), основную (1). Объем кровопотери при взрывной ране составлял 8 и 15% расчетного объема циркулирующей крови (ОЦК) животного. Для получения АУП производили забор крови из хвоста крысы. Через 3 ч после повреждения внутримышечно в область взрывной раны вводили АУП или 0,9% раствор натрия хлорида в объеме 2,0 мл/кг массы животного. Через 3, 7, 14, 28 сут в крови определяли количество эритроцитов, содержание гемоглобина, гематокрит, а в скелетных мышцах области повреждения — показатели микроциркуляции и окислительного метаболизма. Полученные данные обработаны с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2013 (Microsoft, США) в среде программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты. Кровопотеря 8% ОЦК у травмированных животных не приводила к изменению количественного состава периферической красной крови. После нанесения взрывной раны с кровопотерей 15% ОЦК отмечалось умеренное снижение количества эритроцитов (с $8,3$ до $6,5 \times 10^{12}/л$, $p < 0,02$), уровня гемоглобина (со $149,5$ до 118 г/л, $p < 0,01$), гематокрита (с $43,8$ до $33,6\%$, $p < 0,01$) с восстановлением к 7 сут наблюдения. Взрывная рана мягких тканей характеризовалась выраженными посттравматическими нарушениями микрокровоотока независимо от объема кровопотери. Перифокальное внутримышечное введение АУП животным с взрывной раной и кровопотерей 15% ОЦК снижало выраженность посттравматических нарушений микроциркуляции и окислительного метаболизма преимущественно в ранний посттравматический период, о чем свидетельствовало повышение коэффициента вариации перфузии K_v в 1,2–1,3 раза ($p < 0,05$), показателя тканевого потребления кислорода U на 20–22% ($p < 0,05$) и флуоресцентного показателя потребления кислорода ФПК на 48% ($p < 0,05$).

Заключение. У крыс при экспериментальной взрывной ране мягких тканей бедра однократное раннее (через 3 ч после травмы) околораневое внутримышечное введение

АУП снижает выраженность локальных посттравматических нарушений микроциркуляции и метаболизма в скелетных мышцах.

Ключевые слова: взрывная рана, острая кровопотеря, микроциркуляция, окислительный метаболизм

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. Авторы заявляют, что при подготовке статьи не использовались вневедомственные источники финансирования.

Для цитирования: Шулёпов А. В., Шперлинг И. А., Юркевич Ю. В., Шперлинг Н. В., Виноградов М. В., Коуров А. С., Романов П. А., Васильев С. Б. Микроциркуляторный статус и метаболическая активность тканей после локального введения аутологичной плазмы на модели взрывной раны мягких тканей у крыс. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2022; 29(4):53–74. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2022-29-4-53-74>

Поступила 21.04.2022

Принята после доработки 13.06.2022

Опубликована 29.08.2022

MICROCIRCULATORY STATUS AND METABOLIC ACTIVITY OF TISSUES AFTER LOCAL ADMINISTRATION OF AUTOLOGOUS PLASMA ON THE MODEL OF EXPLOSIVE SOFT TISSUE WOUND IN RATS

Aleksandr V. Shulepov*, Igor A. Shperling, Yuri V. Yurkevich, Nataliya V. Shperling, Mikhail V. Vinogradov, Anton S. Kourov, Pavel A. Romanov, Stanislav B. Vasiliev

State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine,
Ministry of Defence of the Russian Federation
Lesoparkovaya str. 4, Saint-Petersburg, 195043, Russia

ABSTRACT

Background. The possibility of local application of autologous blood plasma (ABP) in soft tissue injuries is currently of particular interest.

Objectives. Evaluation of the effects of peri-wound (perifocal) administration of ABP on red blood parameters, microcirculation and oxygen supply of soft tissues of the limb in experimental explosive wound (EW) in rats.

Methods. EW was simulated on male Wistar rats ($n=146$) using a firecracker with a pyrotechnic mixture (patent RU No. 2741238 dated 22.01.2021). Animals were divided into 4 groups: control (2), comparison (1), main (1). The volume of blood loss in explosive wounds was 8 and 15% of the estimated circulating blood volume (CBV) of the animal. Blood was drawn from the rat tail to obtain ABP. 3 hours after the injury, ABP or 0.9% sodium chloride solution was injected intramuscularly into the explosive wound area at a rate of 2.0 ml/kg of animal weight. After 3, 7, 14, 28 days, the number of red blood cells, haemoglobin content, haematocrit were determined in the blood, and microcirculation and oxidative metabolism parameters were determined in the skeletal muscles of the injured area. The data were processed using Microsoft Excel 2013 (Microsoft, USA) and Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA).

Results. Blood loss of 8% of the CBV in injured animals did not lead to changes in the quantitative composition of peripheral red blood. After an explosive wound with a blood loss of 15% of the CBV, there was a moderate decrease in the number of red blood cells (from $8.3 \times 10^{12}/l$ to $6.5 \times 10^{12}/l$, $p < 0.02$), haemoglobin level (from 149.5 g/l to 118 g/l, $p < 0.01$), haematocrit (from 43.8% to 33.6%, $p < 0.01$) with recovery by day 7 of observation. The explosive soft tissue wound was characterized by marked post-traumatic microcirculatory disorders irrespective of the amount

of blood loss. Perifocal intramuscular administration of ABP in animals with an explosive wound and blood loss of 15% CBV reduced the severity of post-traumatic microcirculatory and oxidative metabolic disorders mainly in the early post-traumatic period, as evidenced by an increase in the perfusion variation coefficient K_v by 1.2–1.3 times ($p < 0.05$), tissue oxygen consumption U by 20–22% ($p < 0.05$) and fluorescent oxygen consumption by FPC by 48% ($p < 0.05$).

Conclusion. With an experimental explosive wound of the soft tissues of the thigh in rats, a single early (3 hours after the injury) peri-wound intramuscular administration of ABP reduces the severity of local post-traumatic microcirculatory and metabolic disorders in skeletal muscle.

Keywords: explosive wound, acute blood loss, microcirculation, oxidative metabolism.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest. The authors declare that no non-departmental sources of funding were used for this study.

For citation: Shulepov A.V., Shperling I.A., Yurkevich Y.V., Shperling N.V., Vinogradov M.V., Kourov A.S., Romanov P.A., Vasiliev S.B. Microcirculatory Status and Metabolic Activity of Tissues after Local Administration of Autologous Plasma on the Model of Explosive Soft Tissue Wound in Rats. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2022; 29(4): 53–74. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2022-29-4-53-74>

Received 21.04.2022

Adopted after revision 13.06.2022

Published 29.08.2022

ВВЕДЕНИЕ

При взрывном ранении мягких тканей формируется взрывная рана (ВР), в которой локально происходят множественные очаговые разрывы мышц, стенок сосудов, сопровождающиеся наружным кровотечением различной степени [1]. Малая кровопотеря (кровопотеря 1-го класса по классификации Американской коллегии хирургов) до 10–15% объема циркулирующей крови (ОЦК) не приводит к геморрагическому шоку и не требует обязательной системной коррекции [2]. Компенсация небольшой по объему кровопотери осуществляется преимущественно за счет региональных системных рефлексов, в частности повышения тонуса венозных сосудов, рецепторы которых наиболее чувствительны к гиповолемии [3]. Тем не менее самокомпенсируемая кровопотеря легкой степени может явиться причиной дополнительного вклада в развитие локальных расстройств микроциркуляции области раневого повреждения, усугубляя нарушения локального кровотока, потребления кислорода тканями и уровня окислительных процессов в них [4]. С другой стороны, выраженность регенеративных процессов в поврежденных тканях и, прежде всего, скелетных мышцах достигается адекватным уровнем микроциркуляции и метаболизма, которые способствуют сохранности и пролиферации клеток в различные фазы раневого процесса [5]. В связи с этим актуальной представляется оценка вклада кровопотери легкой степени в развитие микроциркуляторных расстройств в области взрывного повреждения мягких тканей и обоснование возможности уси-

ления локальной микроциркуляции и капиллярной перфузии путем околораневого введения биологически активных препаратов с цитопроактивными и восстановительными свойствами.

В последние годы значительный интерес привлекает исследование регенеративного действия аутологичной плазмы крови (АУП) с различным содержанием тромбоцитарных факторов роста [6]. Плазма крови, обогащенная тромбоцитами, находит применение в травматологии, хирургии, комбустиологии, косметологии и других сферах клинической практики [7, 8]. Ряд исследователей акцентировали внимание на целесообразности использования в регенеративной медицине обогащенной плазмы крови без концентрирования тромбоцитов [9, 10]. Ее получение отличается технической простотой; имеется возможность оперативно обрабатывать небольшие объемы крови пациента; процедура эффективна за счет плазменного компонента, в том числе содержащего естественную концентрацию тромбоцитарных факторов роста [11].

Цель исследования — оценить эффекты околораневого (перифокального) введения аутологичной плазмы крови на показатели периферической красной крови, микроциркуляцию и кислородное обеспечение мягких тканей конечности при экспериментальной взрывной ране у крыс.

МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Исследование выполнено в федеральном государственном бюджетном учреждении «Го-

сударственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ) на 146 половозрелых крысах-самцах линии Вистар четырехмесячного возраста массой 320 ± 30 г. Животные получены из федерального государственного бюджетного учреждения «Питомник лабораторных животных «Рапполово» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» — ПЛЖ «Рапполово») (Ленинградская область, Россия).

Размещение и содержание

Перед экспериментом животные содержались в виварии при постоянной температуре воздуха со свободным доступом к пище и воде. Уход за животными проводили в оборудованном виварии с содержанием в клетках размером $33 \times 45 \times 20$ см по 10 крыс в соответствии с существующими требованиями. До начала эксперимента все животные прошли 14-суточный карантин, находились при полном доступе к пище и воде в условиях вивария. За 6 часов до эксперимента животным ограничивали доступ к пище.

Дизайн исследования

Проведено рандомизированное исследование. Этапы проведения исследования включали: нанесение взрывной раны, наложение асептической повязки (в течение первых минут после повреждения) (1); забор крови и получение аутологичной плазмы (в течение первых 20 мин после повреждения) (2); проведение первичной хирургической обработки раны (через 3 ч после повреждения) (3); распределение животных по экспериментальным группам (4); перифокальное (околораневое) введение аутологичной плазмы или препарата сравнения (изотонический раствор натрия хлорида) по окончании первичной хирургической обработки раны (5); проведение лабораторных и инструментальных исследований через 3, 7, 14 и 28 сут от момента нанесения взрывной раны (6); анализ результатов, формулировка выводов (7) (рис.).

Объем выборки

Объем выборки животных в группах рассчитывали по уровню приемлемой мощности исследований, равной 0,9.

Критерии включения и исключения

Критерии включения

Наличие на наружной поверхности средней трети бедра взрывной раны мягких тканей: рана кожи и подкожно-жировой клетчатки размерами в среднем $3,0 \pm 0,5$ см и площадью $6,9 \pm 0,3$ см²,

рана мышцы со средними размерами $1,2 \pm 0,2$ см, площадью $1,1 \pm 0,2$ см², глубиной кожно-мышечной раны $1,5 \pm 0,1$ мм; наличие кровопотери в объеме 8 и 15% ОЦК путем забора крови из двух источников, а именно из раны, полученной при взрыве, и из хвоста животного путем отсечения его части.

Критерии исключения

Наличие оскольчатого перелома бедренной кости животного; наличие кровопотери более 15% ОЦК.

Рандомизация

С использованием стратегии случайного отбора (рандомизацией «методом конвертов») все животные с взрывной раной были разделены на 4 группы по объему легкой кровопотери: контрольная группа I (BP-I) — с острой кровопотерей 8% ОЦК ($n = 31$); контрольная группа II (BP-II) — с острой кровопотерей 15% ОЦК ($n = 31$); группа сравнения (BP-ФР) — с острой кровопотерей 15% ОЦК и введением 0,9% раствора натрия хлорида ($n = 31$); основная группа (BP-АУП) — с острой кровопотерей 15% ОЦК и последующим введением АУП ($n = 31$). Отдельную группу составляли нетравмированные интактные животные без кровопотери ($n = 22$).

Обеспечение анонимности данных

Для обеспечения объективности результатов исследования эксперименты проводились двумя группами исследователей, которые в процессе работ не обменивались данными о ходе экспериментов. При этом первая группа выполняла работы по пунктам 1, 2, 3 и 6, вторая — по пунктам 4, 5 (см. дизайн исследования).

Итоговые показатели (исходы исследования)

Итоговыми показателями, позволившими провести сравнительную оценку направленности и выраженности общих и местных процессов у экспериментальных животных при вариантах локального лечения, явились количественные показатели клеток красной крови, микроциркуляции и метаболизма тканей области раны.

Экспериментальные процедуры

Эксперименты выполнены при адекватном обезболивании (внутримышечные инъекции золетила и ксилазина по 10 мг/кг каждого препарата). Моделирование взрывной раны проводили с использованием петарды из картонного оболочечного контейнера, начиненного пиротехнической смесью (патент RU № 2741238). Модель позволяет получить изолированное взрывное повреждение



Рис. Дизайн исследования по оценке эффективности локального перифокального применения аутологичной плазмы при экспериментальной взрывной ране с кровопотерей.

Примечание: n — количество экспериментальных животных в группе; ВР-АУП — животные со взрывной раной и кровопотерей 15%, которым локально вводили аутологичную плазму; ВР-ФР — животные со взрывной раной и кровопотерей 15%, которым локально вводили изотонический солевой раствор натрия хлорида; ВР-I и ВР-II — животные со взрывной раной и кровопотерей 8 и 15% соответственно.

Fig. Scientific layout to evaluate the effectiveness of local perifocal application of autologous plasma in experimental explosive wound with blood loss.

Note: n — number of experimental animals in the group; ВР-АУП — animals with an explosive wound and blood loss of 15%, which were locally injected autologous plasma (EW-ABP); ВР-ФР — animals with an explosive wound and blood loss of 15%, which were locally injected isotonic saline sodium chloride solution (EW-RF); ВР-I and ВР-II — animals with an explosive wound and blood loss of 8 and 15%, respectively (EW-I and EW-II).

мягких тканей (кожа, мышцы) задней (тазовой) конечности крыс без переломов костей, сопоставимое по форме, площади и глубине раны.

ОЦК крысы определяли из расчета 7% от массы тела животного [12]. Вначале собирали кровь, истекающую из раны в объеме до 8% ОЦК (1,6–2,0 мл), накладывали временную стерильную давящую повязку. При кровопотере объемом более 2,0 мл (более 8%) животных в эксперимент не включали. Через 2,5 ч после нанесения взрывной раны из хвоста животного путем отсечения его части получали дополнительный объем крови (1,5–1,7 мл), что с учетом объема раневого кровотечения суммарно составляло до 15% ОЦК. Для предупреждения дальнейшей кровопотери культю хвоста перевязывали шелковой лигатурой. Полученную из хвоста кровь использовали для приготовления АУП. Кровь собирали в стерильную пробирку, содержащую фракционированный низкомолекулярный гепарин в виде натриевой соли и специальный разделительный гель [11]. Далее кровь центрифугировали в те-

чение 10 мин со скоростью 3000 об./мин. Такая методика позволяла экономно получать у животных небольшие количества образцов АУП с нормальным содержанием тромбоцитов, не прибегая к усложненной технологии обогащения тромбоцитами плазмы крови [13].

Через 3 ч после ранения животным проводили первичную хирургическую обработку, которая включала удаление инородных тел и нежизнеспособных тканей, внутримышечное введение гентамицина (3 мг/кг массы), перифокальные инъекции АУП или физиологического (0,9%) раствора натрия хлорида. Сроки введения АУП и 0,9% раствора натрия хлорида обусловлены сроками оказания медицинской помощи пострадавшим с травмами. Далее на рану накладывали марлевую повязку и фиксировали ее тканевым лейкопластырем. В течение последующих 7 сут ежедневно проводили перевязки с введением антибиотика.

Свежеприготовленную АУП вводили внутримышечно перифокально в область взрывной раны

бедром путем вверного обкалывания в суммарном объеме 2,0 мл/кг массы животного. Образцы АУП применяли не позднее 20 мин после ее получения. Крысам группы сравнения (группа ВР-ФР) локально применяли 0,9% раствор натрия хлорида в том же объеме аналогичным способом.

Через 3, 7, 14 и 28 сут после нанесения взрывной раны в скелетных мышцах области повреждения определяли состояние микроциркуляции и окислительного метаболизма с помощью многофункционального комплекса лазерной доплеровской флоуметрии «ЛАКК-М» (НПП «Лазма», Россия). Для этого животным под общим обезболиванием обнажали скелетную мышцу периферической области взрывной раны, устанавливали измерительный зонд прибора, проводили измерения.

Методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) определяли показатель постоянной (M , пф. ед.) и переменной (σ , пф. ед.) составляющих перфузии с расчетом значения коэффициента вариации (K_v) в программе прибора по формуле: $K_v (\%) = \sigma/M \times 100$. Коэффициент K_v отражает состояние микрокровотока в исследуемой ткани, а его увеличение свидетельствует об улучшении микроциркуляции.

Методом оптической тканевой оксиметрии измеряли уровень сатурации кислородом крови в микроциркуляторном русле ($SO_2, \%$) и кислородной сатурации артериальной крови ($SpO_2, \%$), рассчитывали индексы перфузионной сатурации кислорода (S_m) и удельного потребления кислорода в ткани (U) по формулам: S_m (усл. ед.) = SO_2/M и U (усл. ед.) = SpO_2/SO_2 . Значение S_m характеризует взаимосвязь между уровнем микрокровотока и количеством не утилизованного кислорода тканями, а его увеличение свидетельствует о снижении потребления кислорода тканями. Значение U показывает общее количество кислорода, потребленного тканями, а его увеличение указывает на активный захват кислорода тканями.

Окислительный метаболизм тканей оценивали методом лазерной флуоресцентной диагностики, с помощью которого измеряли амплитуды флуоресценции окисленных флавопротеидов ($A_{\text{флавины}}$, усл. ед.) и восстановленного кофермента никотинамидадениндинуклеотида ($A_{\text{НАДН}}$, усл. ед.). Никотинамидадениндинуклеотид (НАДН) и флавопротеиды (ФАД) играют важную роль в энергетическом клеточном обмене, и по интенсивности их флуоресценции можно судить о метаболическом состоянии тканей. Используя значения амплитуды НАДН и флавопротеидов, рассчитывали флуоресцентный показатель потребле-

ния кислорода (ФПК) по формуле: $\text{ФПК усл. ед.} = A_{\text{НАДН}}/A_{\text{флавины}}$. Основная масса флавопротеидов образуется при окислении продуктов с участием кислорода, а НАДН — при анаэробных процессах [14]. Для комплексной оценки состояния микроциркуляции, потребления кислорода и метаболизма тканей рассчитывали показатель эффективного кислородного обмена (ЭКО) по формуле: $\text{ЭКО (отн. ед.)} = M \times U \times \text{ФПК}$. Увеличение значений ФПК и ЭКО указывает на повышение кислородопотребления и усиление окислительно-восстановительных процессов в исследуемых тканях.

Животных, находящихся под наркозом, из эксперимента выводили путем декапитации, кровь собирали в пробирки «Vacuette» с ЭДТА K_2 . С помощью ветеринарного автоматического гематологического анализатора Mindray BC-2800Vet (Китай) измеряли: количество эритроцитов (RBC, $\times 10^{12}/л$), содержание гемоглобина (HGB, г/л), гематокрит (HCT, %).

Уход за животными и мониторинг

После моделирования взрывной раны и в последующие сроки наблюдения животные находились в условиях вивария, доступ к пище и воде не ограничен.

Статистические методы

Полученные данные обработаны с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2013 (Microsoft, США) в среде программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). После проверки гипотезы на нормальность распределения с помощью критериев Колмогорова — Смирнова и Шапиро — Уилка рассчитывали медиану (Me) и верхний; нижний квартили (Q_{25} ; Q_{75}), для сравнения данных использовали непараметрический U -критерий Манна — Уитни; различия между величинами считали достоверными, если вероятность их тождества оказывалась менее 5% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На протяжении всего периода наблюдения (28 сут) гибели животных не наблюдалось. Визуальные поведенческие реакции травмированных крыс с различным объемом кровопотери (8% ОЦК и 15% ОЦК) между собой не отличались. Площадь рвано-лоскутного повреждения мышц составляла $1,3 \pm 0,2 \text{ см}^2$, глубина раневого канала — $1,7 \pm 0,3 \text{ см}$.

Анализ показателей периферической красной крови показал, что у крыс с взрывной раной и кровопотерей 8% ОЦК (группа ВР-I) содержание эритроцитов, гемоглобина и уровень гема-

токрита во все периоды наблюдения оставались в пределах значений у интактных животных. Различия в содержании исследуемых показателей периферической крови установлены в ранний посттравматический период у животных с кровопотерей 15% ОЦК (группа ВР-II). Так, через 3 сут после моделирования взрывной раны с кровопотерей 15% ОЦК наблюдалось умеренное снижение количества эритроцитов (с 8,3 до $6,5 \times 10^{12}/л$, $p = 0,02$), уровня гемоглобина (со 149,5 до 118 г/л, $p = 0,01$), гематокрита (с 43,8 до 33,6%, $p = 0,01$) по сравнению с показателями в группе крыс с кровопотерей 8% ОЦК. В последующие сроки исследования (7, 14, 28 сут) статистически значимых различий между изучаемыми показателями в группах ВР-II, ВР-I с кровопотерей 8% ОЦК и интактными животными не выявлено.

Внутримышечное перифокальное введение 0,9% раствора натрия хлорида в область взрывной раны крысам с кровопотерей 15% ОЦК (группа ВР-ФР) не сопровождалось изменением исследуемых показателей красной крови по сравнению с контрольными значениями в группе животных без применения изотонического солевого раствора (группа ВР-II). К исходу 3 сут после взрывного повреждения мягких тканей конечности у животных с острой кровопотерей 15% ОЦК, которым в область раны внутримышечно вводили изотонический солевой раствор, степень снижения уровня эритроцитов, гемоглобина и гематокрита не отличалась от показателей в группе ВР-II. К последующему сроку исследования (через 7 сут после травмы) в сравниваемых группах происходило восстановление показателей периферической крови до исходных значений без изменений на протяжении 14–28 сут наблюдения.

Перифокальное внутримышечное введение в область взрывной раны аутологичной плазмы животным с острой кровопотерей 15% ОЦК (группа ВР-АУП) не приводило к изменению показателей периферической крови, установленных у травмированных животных, которым в область раневого повреждения инъекцировали 0,9% раствор натрия хлорида (группа ВР-ФР). Через 3 сут после моделирования взрывной раны мягких тканей у животных с локальным введением изотонического солевого раствора количество эритроцитов в ответ на кровопотерю 15% ОЦК было умеренно снижено (с 8,3 до $6,5 \times 10^{12}/л$, $p = 0,02$) с последующим восстановлением с исходу 7 сут наблюдения. При внутримышечном введении в поврежденные мягкие ткани аутологичной плазмы содержание эритроцитов в периферической крови определялось в тех же пределах. Изменения, аналогичные с контролем (группа ВР-

ФР), отмечались при оценке уровня гемоглобина и гематокрита (табл. 1).

После нанесения взрывной раны мягких тканей независимо от объема кровопотери легкой степени в скелетных мышцах перифокальной зоны ранения наблюдались выраженные нарушения микроциркуляции. Наибольшее снижение микроциркуляции фиксировалось в ранний посттравматический период (через 3 сут после травмы). У животных с кровопотерей 8% ОЦК (группа ВР-I) в скелетных мышцах зоны повреждения коэффициент вариации постоянной и переменной перфузии (K_v) в этот срок исследования был снижен в 1,8 раза (с 13,6 до 7,4%, $p = 0,02$) по сравнению с показателем у интактных крыс, что свидетельствовало о нарушении активных и пассивных механизмов регуляции локального кровотока. В последующие сроки исследования (7–14 сут) отмечался прирост показателя перфузии до 8,2–9,1%. Тем не менее значения медианы коэффициента K_v оставались в 1,5–1,6 раза ($p = 0,05$) ниже по сравнению с показателем у интактных животных. К исходу 28 сут исследования значения K_v в поврежденной мышечной ткани животных повышались до 11,7%, однако не достигали медианы показателя микроциркуляции до нанесения взрывной раны. Моделирование взрывной раны с дефицитом 15% ОЦК (группа ВР-II) характеризовалось аналогичной динамикой и степенью выраженности изменений микроциркуляции в скелетных мышцах области повреждения по сравнению с животными с взрывной раной и потерей крови 8% ОЦК (табл. 2).

Посттравматическое нарушение микроциркуляции области взрывной раны сопровождалось существенным снижением тканевого потребления кислорода. Прирост показателя S_m , свидетельствующего о количестве неутилизованного кислорода в венозном сегменте локального кровотока, в группах травмированных животных с кровопотерей 8% ОЦК и 15% ОЦК на протяжении всего периода наблюдения был одинаковым с наибольшими значениями (в 3,3–3,4 раза, $p = 0,01$) в первые 3 сут после взрывного повреждения по сравнению с показателем у интактных животных. Несмотря на последующее динамическое снижение, показатель в период формирования рубца (к исходу 28 сут после травмы) в обеих группах животных оставался выше исходных значений в 1,4–1,5 раза ($p = 0,02$). Сходные изменения отмечены в динамике удельного потребления кислорода скелетной мышечной тканью зоны повреждения. У животных с взрывной раной и кровопотерей 8% и 15% ОЦК индекс U во все сроки наблюдения был в равной степени снижен (в 1,5–2,6 раза, $p = 0,01$) по отношению

Таблица 1. Показатели периферической красной крови у животных с экспериментальной взрывной раной и острой кровопотерей, Ме [Q₂₅; Q₇₅]Table 1. Peripheral red blood values in animals with experimental explosive wound and acute blood loss, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Группы исследования	Сроки наблюдения, сут	Эритроциты, ×10 ¹² /л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
Интактные животные, n = 11		8,3 [7,8; 8,5]	151,5 [132,0; 162,0]	44,6 [39,9; 47,1]
BP-I (кровопотеря 8% ОЦК; n = 31)	3	8,3 [7,2; 9,1]	149,5 [135,0; 157,5]	43,8 [40,7; 47,4]
		n = 8		
	7	8,1 [7,4; 9,3]	149,0 [136,5; 162,0]	45,5 [42,5; 49]
		n = 7		
	14	7,9 [6,9; 8,9]	148,0 [138,0; 157,5]	43,2 [40,0; 46,2]
		n = 8		
	28	8,1 [7,7; 9,7]	154,5 [142,0; 164,0]	44,2 [43,1; 47,9]
		n = 8		
BP-II (кровопотеря 15% ОЦК; n = 31)	3	6,5*,** [5,2; 7,1]	118,0*,** [109,0; 128,0]	33,6*,** [32,1; 37,2]
		n = 8		
	7	8,4 [7,3; 9,4]	145,5 [133,0; 155,0]	42,2 [39,1; 45,4]
		n = 8		
	14	8,9 [7,9; 9,9]	148,5 [134,0; 156,5]	43,2 [39,8; 46,8]
		n = 7		
	28	9,2 [8,1; 10,0]	150,0 [137,5; 163,5]	42,4 [39,4; 45,8]
		n = 8		
BP-ФР (кровопотеря 15% ОЦК, паравульнарное введение изотонического солевого раствора; n = 31)	3	6,8*,** [5,5; 7,4]	122,0*,** [114,0; 130,0]	34,1*,** [32,7; 37,7]
		n = 7		
	7	8,8 [7,7; 9,6]	146,0 [133,0; 154,5]	42,5 [39,3; 46,1]
		n = 8		
	14	9,0 [7,7; 9,6]	147,0 [132,0; 154,5]	45,0 [42,1; 49,3]
		n = 8		
	28	9,2 [8,1; 10,2]	151,0 [138,5; 164,0]	43,2 [40,2; 46,6]
		n = 8		
BP-АУП (кровопотеря 15% ОЦК, паравульнарное введение АУП; n = 31)	3	7,2*,** [6,5; 7,7]	126,0*,** [118,0; 132,0]	35,9*,** [34,5; 39,5]
		n = 8		
	7	8,6 [7,2; 9,2]	143,0 [130,0; 156,0]	42,5 [40,3; 46,6]
		n = 8		
	14	8,9 [7,8; 9,7]	149,5 [140,0; 159,0]	43,2 [40,2; 46,6]
		n = 8		
	28	9,0 [8,0; 9,9]	152,5 [141,0; 162,0]	45,0 [42,1; 49,3]
		n = 7		

Примечание: * $p \leq 0,05$ — различия достоверны по сравнению с показателями у интактных животных;

** $p \leq 0,05$ — различия достоверны по сравнению с показателями у животных группы BP-I (по срокам наблюдения); Me — медиана; Q₂₅ и Q₇₅ — 1-й и 3-й квартили.

Note: * $p \leq 0.05$ — differences are significant compared to intact animals; ** $p \leq 0.05$ — differences are significant compared to EW-I animals (by observation period); Me — median; Q₂₅ and Q₇₅ — 1st and 3rd quartiles.

Таблица 2. Показатели микроциркуляции и потребления кислорода области повреждения скелетных мышц бедра у крыс с экспериментальной взрывной раной и острой кровопотерей, Me [Q₂₅; Q₇₅]
Table 2. Indices of microcirculation and oxygen consumption in the skeletal muscle damage area of the thigh in rats with an experimental explosive wound and acute blood loss, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Группы исследования	Сроки наблюдения, сут	K _v , %	S _m , усл. ед.	U, усл. ед.
Интактные животные, n = 11		13,6 [12,8; 14,6]	2,7 [2,5; 2,9]	3,10 [3,04; 3,17]
		(n = 11)		
BP-I (кровопотеря 8% ОЦК; n = 31)	3	7,4* [6,4; 8,2]	9,2* [8,2; 10,2]	1,20* [1,16; 1,30]
		(n = 8)		
	7	8,2* [7,6; 8,7]	8,1* [7,2; 9,0]	1,36* [1,33; 1,46]
		(n = 7)		
	14	9,1* [7,8; 10,2]	6,2* [5,0; 7,2]	1,95* [1,80; 2,05]
		(n = 8)		
	28	11,7* [10,4; 12,5]	3,9* [2,9; 4,8]	2,67* [2,15; 2,78]
		(n = 8)		
BP-II (кровопотеря 15% ОЦК; n = 31)	3	7,7* [7,1; 8,2]	9,0* [8,1; 9,9]	1,37* [1,23; 1,41]
		(n = 8)		
	7	8,4* [7,4; 9,2]	7,5* [6,2; 8,7]	1,54* [1,40; 1,58]
		(n = 8)		
	14	9,2* [8,2; 10,0]	6,8* [5,9; 7,7]	1,70* [1,65; 1,85]
		(n = 7)		
	28	11,2* [10,3; 12,6]	4,2* [3,0; 5,2]	2,54* [2,39; 2,64]
		(n = 8)		

Примечание: * p ≤ 0,05 — различия достоверны по сравнению с показателями у интактных животных; K_v — коэффициент вариации показателя микроциркуляции; S_m — перфузионная сатурация кислорода в микрокровотоке; U — индекс удельного потребления кислорода тканями; Me — медиана; Q₂₅ и Q₇₅ — 1-й и 3-й квартили.
Note: * p ≤ 0.05 — differences are significant compared to intact animals; ФПК — fluorescent oxygen consumption index (FOC); ЭКО — oxygen metabolism efficiency index (OME); n — number of animals; Me — median; Q₂₅ and Q₇₅ — 1st and 3rd quartiles.

к значениям у интактных животных, свидетельствуя о нарушении перфузионной сатурации и утилизации кислорода поврежденными тканями независимо от объема кровопотери в пределах значений индекса U у травмированных животных с 8% ОЦК и 15% ОЦК (табл. 2).

Нарушения микрокровотока и потребления кислорода области взрывной раны коррелировали с изменениями окислительного метаболизма (табл. 3). В ранние сроки после травмы (через 3 сут) флуоресцентный показатель потребления кислорода (ФПК) у животных с кровопотерей 8% и 15% ОЦК снижался соответственно в 1,83–1,85 раза (p = 0,01) относительно значений у интактных животных, отражая равную ин-

тенсивность нарушений окислительно-восстановительных процессов. В последующие сроки исследования (через 7–14 сут после повреждения) интенсивность окислительного метаболизма в группах с разным объемом потери крови в равной степени повышалась, однако к исходу наблюдения (28 сут) не достигала достоверных значений ФПК у интактных крыс.

Во все периоды наблюдения у травмированных животных с кровопотерей 8% ОЦК и 15% ОЦК также не выявлено достоверных различий в эффективности кислородного обмена скелетных мышц зоны раневого повреждения. Наименьшие значения ЭКО установлены в обеих группах животных через 3 сут после моделирования взрывной раны

Таблица 3. Показатели окислительного метаболизма в области повреждения скелетных мышц бедра у крыс с экспериментальной взрывной раной и острой кровопотерей, Me [Q_{25} ; Q_{75}]

Table 3. Indices of oxidative metabolism in the skeletal muscle damage area of the thigh in rats with an experimental explosive wound and acute blood loss, Me [Q_{25} ; Q_{75}]

Группы исследования	Сроки наблюдения, сут	ФПК, усл. ед.	ЭКО, отн. ед.
Интактные животные, $n = 11$		1,98 [1,75; 2,48]	87,7 [62,8; 115,9]
($n = 11$)			
BP-I (кровопотеря 8% ОЦК; $n = 31$)	3	1,07* [0,99; 1,16]	8,2* [6,3; 11,5]
		($n = 8$)	
	7	1,37* [1,28; 1,45]	12,3* [9,0; 16,5]
		($n = 7$)	
	14	1,42* [1,33; 1,52]	18,8* [13,4; 25,9]
		($n = 8$)	
	28	1,63* [1,53; 1,74]	41,6* [29,8; 51,7]
		($n = 8$)	
BP-II (кровопотеря 15% ОЦК; $n = 31$)	3	1,08* [1,01; 1,17]	9,6* [6,7; 12,7]
		($n = 8$)	
	7	1,35* [1,26; 1,43]	14,1* [10,1; 18,3]
		($n = 8$)	
	14	1,43* [1,34; 1,53]	16,8* [13,0; 24,1]
		($n = 7$)	
	28	1,66* [1,59; 1,74]	39,3* [33,1; 51,6]
		($n = 8$)	

Примечание. * $p \leq 0,05$ — различия достоверны по сравнению с показателями у интактных животных; ФПК — флуоресцентный показатель потребления кислорода; ЭКО — показатель эффективности кислородного обмена; n — количество животных; Me — медиана; Q_{25} и Q_{75} — 1-й и 3-й квартили.

Note: * $p \leq 0.05$ — differences are significant compared to intact animals; ФПК — fluorescent oxygen consumption index (FOC); ЭКО — oxygen metabolism efficiency index (OME); n — number of animals; Me — median; Q_{25} and Q_{75} — 1st and 3rd quartiles.

с последующим частичным восстановлением без межгрупповых различий показателя эффективности кислородного режима (табл. 3).

Следовательно, кровопотеря в объеме 15% ОЦК при экспериментальной взрывной ране не вносила достоверных изменений в динамику локальных микроциркуляторных посттравматических расстройств по сравнению с травмированными животными с потерей крови 8% ОЦК. Полученные результаты обосновывают безопасность дополнительного забора крови при взрывной ране с легкой кровопотерей для получения аутологичной плазмы с целью ее использования для коррекции локальных нарушений микроциркуляции и метаболизма.

Локальное внутримышечное введение аутологичной плазмы животным с взрывной раной

и кровопотерей 15% ОЦК приводило к отчетливым положительным сдвигам микроциркуляции и потребления кислорода области повреждения скелетных мышц (табл. 4).

Состояние микрокровотока скелетных мышц зоны раневого повреждения конечности животных контрольной группы, которым после моделирования взрывной травмы и кровопотери паравульнарно вводили 0,9% раствор натрия хлорида, характеризовалось развитием в ранний посттравматический период выраженных перфузионных нарушений. Спустя 3 сут после нанесения взрывной раны мягких тканей конечности коэффициент вариации показателя микроциркуляции K_v в поврежденной мышечной ткани животных группы сравнения (группа BP-ФР) был существенно снижен в 1,8 раза (с 13,6 до 7,6%,

Таблица 4. Показатели микроциркуляции и потребления кислорода в области повреждения скелетных мышц бедра у крыс с экспериментальной взрывной раной и кровопотерей 15% ОЦК после локального применения аутологичной плазмы, Ме [Q₂₅; Q₇₅]
Table 4. Indices of microcirculation and oxygen consumption in the skeletal muscle damage area of the thigh in rats with an experimental explosive wound and blood loss of 15% CBV after local application of autologous plasma, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Группы исследования	Сроки наблюдения, сут	K _v , %	S _m , усл. ед.	U, усл. ед.
Интактные животные, n = 11		13,6 [12,8; 14,6]	2,7 [2,5; 2,9]	3,10 [3,04; 3,17]
(n = 11)				
ВР-ФР (кровопотеря 15% ОЦК, паравульнарное введение изотонического солевого раствора; n = 31)	3	7,6* [6,6; 8,4]	8,8* [8,0; 9,8]	1,34* [1,21; 1,39]
	(n = 7)			
	7	8,1* [7,5; 9,6]	7,2* [6,1; 8,5]	1,53* [1,47; 1,60]
	(n = 8)			
	14	9,2* [8,5; 10,3]	6,4* [5,5; 7,4]	1,74* [1,67; 1,89]
	(n = 8)			
	28	11,8* [9,5; 12,2]	4,8* [4,0; 6,1]	2,49* [2,32; 2,59]
	(n = 8)			
ВР-АУП (кровопотеря 15% ОЦК, паравульнарное введение АУП; n = 31)	3	9,5*, ** [8,9; 10,3]	6,7*, ** [5,1; 7,8]	1,61*, ** [1,52; 1,76]
	(n = 8)			
	7	10,4*, ** [9,8; 11,2]	6,1* [5,3; 6,6]	1,86*, ** [1,73; 2,04]
	(n = 8)			
	14	11,1** [10,5; 13,2]	5,0*, ** [4,1; 5,5]	2,13*, ** [1,95; 2,30]
	(n = 8)			
	28	12,9 [11,4; 13,7]	4,1* [3,0; 5,5]	2,81 [2,30; 3,22]
	(n = 7)			

Примечание: * $p \leq 0,05$ — различия достоверны по сравнению с показателями у интактных животных; ** $p \leq 0,05$ — достоверность различий показателей группы ВР-АУП по сравнению с показателями у животных группы ВР-ФР (по срокам наблюдения); ОЦК — объем циркулирующей крови; K_v — коэффициент вариации показателя микроциркуляции; S_m — перфузионная сатурация кислорода в микрокровотоке; U — индекс удельного потребления кислорода тканями; Ме — медиана; Q₂₅ и Q₇₅ — 1-й и 3-й квартили.
Note: * $p \leq 0.05$ — differences are significant compared to intact animals; ** $p \leq 0.05$ — the reliability of differences in the ВР-АУП (EW-ABP) group compared to the ВР-ФР (EW-RF) animals (by observation period); ОЦК — circulating blood volume (CBV); K_v — coefficient of variation of microcirculation index; S_m — perfusion oxygen saturation in microcirculation; U — specific tissue oxygen consumption index; Me — median; Q₂₅ and Q₇₅ — 1st and 3rd quartiles.

$p = 0,04$) по отношению к данным у интактных нетравмированных животных. Степень снижения показателя K_v в микроциркуляторном русле травмированных животных, которым в зону взрывной раны вводили аутологичную плазму, была менее выраженной. Показатель перфузии был снижен не более чем в 1,4 раза (с 13,6% до 9,5%, $p = 0,04$) от значений интактных животных, в 1,25 раза ($p = 0,02$) превышая показатель перфузии по отношению к группе сравнения

(группа ВР-ФР). В последующие сроки наблюдения (7–14 сут посттравматического периода) в контрольной группе регистрировался несущественный прирост изучаемого показателя микроциркуляции. У травмированных животных с перифокальным введением аутологичной плазмы показатель K_v достоверно в 1,2–1,3 раза ($p = 0,02$) превышал его средние значения по сравнению с группой животных, которым вводили солевой изотонический раствор. В поздний пост-

травматический период (к исходу 28 сут наблюдения) значения показателя K_v в поврежденной мышечной ткани животных контрольной группы оставались достоверно ниже ($p < 0,05$) показателя микроциркуляции интактных нетравмированных животных, свидетельствуя о сниженном микрокровотоке в восстанавливаемых тканях. В условиях локального введения аутологичной плазмы показатель микроциркуляции приближался к значениям интактных животных.

Отчетливая взаимосвязь установлена между уровнем микрокровотока и степенью утилизации кислорода тканями зоны взрывного повреждения. У животных контрольной группы, которым после моделирования взрывной раны с кровопотерей 15% ОЦК регионарно вводили 0,9% раствор натрия хлорида, индекс перфузионной сатурации кислорода (S_m) через 3 сут после травмы повышался более чем в 3,3 раза ($p = 0,006$) по отношению к интактным животным, свидетельствуя о высоком уровне не утилизированного тканями кислорода. При паравульнарном введении травмированным животным свежеприготовленной аутологичной плазмы доля не утилизованного кислорода в этот срок наблюдения была на 24% ($p = 0,03$) ниже значений в контрольной группе. Различия между группами значимо сохранялись на протяжении 7–14 сут после травмы в пределах 15–22% ($p = 0,04$). К исходу 28 сут индекс перфузионной сатурации кислорода у животных, которым вводили аутологичную плазму, имел более выраженную тенденцию к нормализации, однако различия между группами не превышали 14% ($p = 0,06$) и не достигали показателя интактных (нетравмированных) животных.

Ослабление доли не утилизованного поврежденными тканями кислорода при использовании аутологичной плазмы ассоциировалось с усилением процессов тканевого потребления кислорода. Ранний посттравматический период у животных контрольной группы (введение изотонического солевого раствора) характеризовался выраженным (в 2,3 раза, $p = 0,01$) снижением индекса U с последующим его динамическим повышением во все сроки наблюдения, не достигающим уровня интактных животных. Локальное применение аутологичной плазмы животным с взрывной раной сопровождалось на протяжении 3–14 сут после травмы достоверным приростом показателя потребления кислорода на 20–22% ($p = 0,04$) по сравнению с контрольной группой травмированных животных, которым локально вводили солевой изотонический раствор, что указывало на более активный захват кислорода тканями. К заключительному периоду наблюдения (28 сут) различия в значениях пер-

фузионной сатурации кислорода у животных, которым вводили аутологичную плазму, несущественно превышали контрольный уровень (на 12%, $p = 0,07$), но и не достигали уровня у интактных животных.

Реакция системы микроциркуляции на паравульнарное введение аутологичной плазмы отчетливо проявлялась при анализе амплитудных характеристик излучения флуоресценции восстановленного НАДН и окисленной формы ФАД скелетных мышц области взрывного повреждения (табл. 5).

В ранний период после взрывного воздействия (через 3 сут) у животных группы сравнения, которым вводили солевой изотонический раствор, флуоресцентный показатель потребления кислорода тканями в зоне повреждения мышц был значимо снижен (в 2 раза, $p = 0,02$) по сравнению с группой интактных животных. В последующие сроки наблюдения (7–28 сут) амплитуда флуоресценции окисленной формы ФАД в поврежденных мышцах по сравнению с амплитудой в интактной мышце сохранялась сниженной при одновременном накоплении восстановленного кофермента НАДН. Как следствие, показатель ФПК поврежденных скелетных мышц травмированных животных группы сравнения оставался в 1,2–1,5 раза ($p = 0,03$) ниже значений нетравмированных интактных животных, свидетельствуя о слабой утилизации тканями кислорода и преобладании процессов анаэробного окисления.

Внутримышечное введение аутологичной плазмы в область раневого повреждения препятствовало снижению амплитуды флуоресценции окисленной формы ФАД и росту амплитуды флуоресценции НАДН в травмированных скелетных мышцах. Уже в ранний посттравматический период (через 3 сут после повреждения) величина ФПК как результирующий показатель соотношения амплитуды флуоресценции окисленной формы ФАД и амплитуды флуоресценции НАДН в скелетных мышцах была на 48% ($p = 0,03$) выше значений травмированных животных группы сравнения, не достигая, однако, значений ФПК скелетных мышц интактных животных. К исходу 7 и 14 сут после травмы прирост показателя ФПК зоны повреждения скелетных мышц животных, которым вводили аутологичную плазму, снижался, оставаясь, тем не менее, на 20–22% ($p = 0,04$) выше значений, установленных у животных группы сравнения. В завершающую фазу раневого процесса (через 28 сут после взрывной травмы) межгрупповые различия в показателе флуоресцентного потребления кислорода сохранялись, однако не превышали 14% ($p = 0,06$).

Таблица 5. Показатели окислительного метаболизма скелетных мышц бедра в области повреждения у крыс с экспериментальной взрывной раной и кровопотерей 15% ОЦК после локального применения аутологичной плазмы, Me [Q_{25} ; Q_{75}]
Table 5. Indices of oxidative metabolism in the skeletal muscle damage area of the thigh in rats with an experimental explosive wound and blood loss of 15% CBV after local application of autologous plasma, Me [Q_{25} ; Q_{75}]

Группы исследования	Сроки наблюдения, сут	ФПК, усл. ед.	ЭКО, отн. ед.
Интактные животные, n = 11		1,98 [1,72; 2,48]	87,7 [62,8; 115,9]
		(n = 11)	
ВР-ФР (кровопотеря 15% ОЦК, паравульнарное введение изотонического солевого раствора; n = 31)	3	0,96* [0,88; 1,09]	8,5* [5,9; 11,5]
			(n = 7)
	7	1,29* [1,20; 1,39]	13,6* [10,1; 18,5]
			(n = 8)
	14	1,48* [1,39; 1,56]	18,0* [13,7; 23,9]
		(n = 8)	
ВР-АУП (кровопотеря 15% ОЦК, паравульнарное введение АУП; n = 31)	3	1,42*. ** [1,36; 1,50]	15,4*. ** [11,6; 20,7]
			(n = 8)
	7	1,57*. ** [1,41; 1,63]	24,5*. ** [18,7; 30,2]
			(n = 8)
	14	1,77*. ** [1,65; 1,86]	30,2*. ** [24,2; 39,7]
		(n = 8)	
ВР-АУП (кровопотеря 15% ОЦК, паравульнарное введение АУП; n = 31)	28	1,87 [1,79; 2,12]	47,3* [35,1; 58,3]
			(n = 7)

Примечание: * $p \leq 0,05$ — различия достоверны по сравнению с показателями у интактных животных; ** $p \leq 0,05$ — достоверность различий показателей группы ВР-АУП по сравнению с показателями у животных группы ВР-ФР (по срокам наблюдения); ОЦК — объем циркулирующей крови; ФПК — флуоресцентный показатель потребления кислорода; ЭКО — показатель эффективности кислородного обмена; n — количество животных; Me — медиана; Q_{25} и Q_{75} — 1-й и 3-й квартили.
Note: * $p \leq 0.05$ — differences are significant compared to intact animals; ** $p \leq 0.05$ — the reliability of differences in the ВР-АУП (EW-ABP) group compared to the ВР-ФР (EW-RF) animals (by observation period); ОЦК — circulating blood volume (CBV); ФПК — fluorescent oxygen consumption index (FOC); ЭКО — oxygen metabolism efficiency index (OME); n — number of animals; Me — median; Q_{25} and Q_{75} — 1st and 3rd quartiles.

Отражением наблюдаемых изменений явилась оценка интегрального показателя эффективного кислородного обмена. Нанесение взрывной раны животным контрольной группы сопровождалось существенным продолжительным снижением интенсивности ЭКО с наиболее выраженным угнетением (в 10,3 раза, $p = 0,006$) в ранний посттравматический период. Внутримышечное введение животным в область взрывного повреждения мягких тканей аутологичной плазмы предупреждало снижение уровня потребления кислорода тканями, препятствуя прогрессированию нарушений метаболических процессов. Наибольшая выраженность изме-

нений окислительно-восстановительных процессов в скелетных мышцах после локального применения аутологичной плазмы сохранялась через 3 сут после взрывного повреждения мягких тканей. Показатель ЭКО в этот срок наблюдения был снижен не более чем в 5,7 раза ($p = 0,009$). В последующие сроки исследования (7–14 сут) различия показателя ЭКО по сравнению с контролем составляли 70–80% ($p = 0,02$). К концу периода наблюдения (через 28 сут) интегральный показатель эффективного кислородного обмена на 28% превышал значения, установленные у травмированных животных контрольной группы, которым в область раневого повреждения

вводили солевой изотонический раствор, однако различия не были статистически значимыми.

ОБСУЖДЕНИЕ

Интерпретация / научная значимость

Результаты настоящего исследования соотносятся с существующими положениями о раневом процессе, роли биологических жидкостей (в частности, плазмы крови) в регуляции гомеостаза на организменном и тканевом уровнях в рамках механизмов восстановления тканей после повреждения. Научная значимость полученных результатов представляется установленными критериями безопасного объема кровопотери, позволяющего приготовить препарат аутологичной плазмы для применения в тканесохраняющих технологиях лечения мягких тканей при взрывном повреждении.

Ограничения исследования

Ограничения исследования определены форматом эксперимента (мелкие лабораторные животные, модель взрывной раны без кровотечения и перелома, проведение лечебных манипуляций в ранний период раневого процесса — через 3 ч после повреждения), что следует учитывать при воспроизведении аналогичных исследований для получения новых данных о направлениях разработки методов лечения повреждения мягких тканей.

Обобщаемость/экстраполяция

Результаты настоящего исследования могут быть обобщены в рамках закономерностей развития и течения раневого процесса с опорой на объективные показатели (микроциркуляция и метаболическая активность тканей) после повреждения. Экстраполяция полученных данных на организм человека возможна относительно направленности развития патологических реакций при повреждении тканей и саногенетических механизмов их восстановления в условиях дополнительного забора крови в физиологически безопасном объеме и локального применения аутологичной плазмы.

Механизмы компенсации острой кровопотери приводят к нарушению доставки кислорода к поврежденным тканям и могут оказаться фактором, осложняющим развитие посттравматических расстройств микроциркуляции и окислительного метаболизма скелетных мышц области раневого повреждения тканей [4]. Принципиально этот вопрос требует учета при решении ряда прикладных задач, включая поиск и апробацию способов восстановления микроциркуляции и усиления процессов заживления раневых повреждений, сопровождающихся кровопотерей.

Оценка эффектов околораневого введения свежеприготовленной аутологичной плазмы на микроциркуляцию и кислородное обеспечение поврежденных мягких тканей конечности при экспериментальной взрывной ране с кровопотерей в пределах 8 и 15% ОЦК положена в основу настоящего исследования.

Прежде всего установлены различия в содержании эритроцитов, гемоглобина и уровня гематокрита в периферической крови травмированных животных с легкой кровопотерей различного объема. Кровопотеря 8% ОЦК не приводила к изменению состава периферической крови на протяжении всех сроков наблюдения. Кровопотеря 15% ОЦК сопровождалась в ранний посттравматический период (через 3 сут после воздействия) снижением исследуемых показателей крови, свидетельствуя о развитии гидремической стадии компенсации острой кровопотери [15]. Смена простой гиповолемии на олигоцитемическую нормоволемию не являлась продолжительной. К исходу 7 сут после моделирования кровопотери 15% ОЦК содержание эритроцитов, гемоглобина и уровня гематокрита самостоятельно восстанавливались до значений интактных нетравмированных животных, отражая формирование костномозговой фазы компенсации острой кровопотери [16]. Следовательно, экспериментальная взрывная рана с кровопотерей 15% ОЦК характеризовалась умеренными непродолжительными проявлениями олигоцитемической нормоволемии с самостоятельной компенсацией плазменного и клеточного состава крови, что обосновывает возможность безопасного забора крови для получения аутологичной плазмы и оценке ее протективных эффектов в условиях кровопотери легкой степени.

Нанесение взрывной раны мягких тканей приводило к выраженным и продолжительным нарушениям микрокровотока в скелетных мышцах перифокальной зоны повреждения. Патологические сдвиги выявлялись также при оценке перфузионной сатурации кислорода в микрокровотоке, отражающей отношение насыщенности кислородом тканей и состояния микроциркуляции, а также удельного потребления кислорода тканью в качестве критерия общего потребления кислорода на единицу объема циркулирующей крови [17]. Нарушения микрокровотока и потребления кислорода области взрывной раны коррелировали с изменениями окислительного метаболизма. Показатели потребления кислорода и эффективности кислородного обмена у травмированных животных значительно снижались, свидетельствуя о слабой утилизации тканями кислорода и преобладании процессов анаэробного окисления

[4]. Наибольшее снижение микроциркуляции фиксировалось в ранний посттравматический период (через 3 сут после травмы). При этом динамика и степень выраженности изменений микрокровотока и кислородного обмена в скелетных мышцах области повреждения не зависели от объема кровопотери (8% ОЦК и 15% ОЦК). Следовательно, кровопотеря в объеме 15% ОЦК при экспериментальной взрывной ране не изменяла динамику локальных посттравматических расстройств микроциркуляции и кислородного обмена скелетных мышц зоны раневого повреждения по сравнению с травмированными животными с потерей крови 8% ОЦК. Наблюдаемые изменения показателей микрокровотока и кислородного обеспечения в поврежденных скелетных мышцах обусловлены непосредственным воздействием раневых факторов взрыва.

Перифокальное внутримышечное введение в область взрывной раны аутологичной плазмы животным с острой кровопотерей 15% ОЦК не изменяло динамику показателей периферической крови, установленных у травмированных животных с таким же объемом кровопотери, однако приводило к отчетливым положительным сдвигам микроциркуляции и потребления кислорода в области повреждения скелетных мышц. Локальное введение в область повреждения аутологичной плазмы позволяло уже в ранние сроки после взрывной травмы мягких тканей улучшить перфузионные характеристики микроциркуляции, положительно влиять на трофику и окислительный метаболизм поврежденных скелетных мышц. Ослабление доли не утилизируемого поврежденными тканями кислорода при использовании аутологичной плазмы ассоциировалось с усилением процессов тканевого потребления кислорода. Локальное применение аутологичной плазмы у животных с взрывной раной сопровождалось на протяжении основных периодов после травмы (3–14 сут) достоверным приростом показателя потребления кислорода по сравнению с контролем, что указывало на более активный захват кислорода тканями. Реакция системы микроциркуляции на паравульнарное введение аутологичной плазмы отчетливо проявлялась при анализе амплитудных характеристик излучения флуоресценции восстановленного НАДН и окисленной формы ФАД скелетных мышц области взрывного повреждения. Совокупным отражением наблюдаемых изменений явилась интегральная оценка флуоресцентного показателя потребления кислорода ферментом дыхательной цепи и эффективности кислородного обмена, свидетельствующая о способности аутологичной плазмы обеспечивать динамиче-

ское восстановление потребления кислорода в тканях, поврежденных взрывной травмой.

Таким образом, околораневое внутримышечное применение аутологичной плазмы приводит к улучшению микрокровотока, сохранению клеточных аэробных процессов и трансапиллярного обмена в мягких тканях, поврежденных взрывной травмой, увеличивая способность тканей к репарации, снижению выраженности воспаления и деструкции. Участие плазменного компонента в защите поврежденных тканей, усилении пролиферации в зоне регенерации вполне очевидно. Плазма крови содержит протеины, белки, глюкозу, электролиты и другие биологически активные вещества, по составу очень близка к составу межклеточной жидкости [18]. Ее раннее (через 3 ч) внутритканевое введение в область раны имитирует поступление жидкой части крови в очаг повреждения в процессе формирования воспалительной реакции. Возникающая гидратация тканей, обусловленная преимущественно онкотическим давлением белков плазмы крови, способствует снижению раневого отека, а усиление микрокровотока в области повреждения (к исходу 3–7 сут после травмы) улучшает межклеточные взаимодействия, обеспечивает элиминацию нежизнеспособных тканей, активацию роста грануляций. В условиях раннего применения паравульнарная инсуффляция тканей аутологичной плазмой может рассматриваться в качестве эффективного и безопасного способа раневого гемостаза. Локальная инъекция свежезамороженной плазмы крови существенно снижала частоту кровотечений при выполнении инвазивных процедур, что позволило авторам считать ее использование физиологическим кровеостанавливающим средством первой линии в дополнение к другим способам остановки кровотечений [19]. Кроме того, отмечена способность плазмы крови заполнять пустоты и тем самым обеспечивать гемостаз в труднодоступных местах [20].

Выводы о требуемом количестве тромбоцитов, тромбоцитарных ростовых факторов в образцах плазмы крови относительно результатов ее применения еще далеки от окончательного заключения. В подтверждении нуждается установление значимости низких, высоких и супервысоких уровней тромбоцитарных компонентов в восстановлении темпов регенерации. Необходимость учета содержания факторов роста тромбоцитов, избыточный уровень которых может запустить апоптоз фибробластов, имеет основание [21]. Необходимо иметь в виду, что не обогащенная тромбоцитами плазма крови содержит естественный комплекс факторов роста, про- и про-

тивовоспалительных цитокинов. При этом свежеприготовленная плазма крови по сравнению с плазмой, предварительно повергнутой замораживанию, включает более высокие уровни тромбоцитарного фактора роста-АА и -АВ, лейкоцитарного хемотаксического цитокина, интерлейкина-4, ангиогенных факторов роста и других факторов, участвующих в репаративном гистогенезе [22]. После локального применения аутологичной плазмы повышенный уровень микроциркуляции и восстановления транскапиллярного обмена области взрывного повреждения в период воспаления, формирования грануляционной ткани и образования рубца может быть свидетельством стимулирующего действия факторов роста, адгезивных молекул и цитокинов на процессы репаративной регенерации для ускоренного и полноценного заживления раневого дефекта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У крыс при экспериментальной взрывной ране мягких тканей бедра раннее однократное (через 3 ч после травмы) околораневое внутримышечное введение аутологичной плазмы крови снижает выраженность локальных посттравматических нарушений микроциркуляции, повышает потребление кислорода клетками, препятствует угнетению окислительного метаболизма в скелетных мышцах. Положительные изменения микроциркуляции и окислительного метаболизма наблюдались в ранний посттравматический период (первые 14 сут после повреждения). Объем раневой кровопотери в результате повреждения тканей составлял в среднем 8% ОЦК, что не вызывало постгеморрагическую анемию в течение всего периода наблюдения (28 сут). Общий объем раневой кровопотери и забранной крови для приготовления необходимого объема аутологичной плазмы (2,0 мл/кг массы животного) составлял в среднем 15% ОЦК, при этом развивалась кратковременная невыраженная постгеморрагическая анемия в течение первых 3 сут эксперимента. Статистически значимых различий в метаболическом и микроциркуляторном статусах тканей у животных с общей кровопотерей 8 или 15% ОЦК не выявлено. Таким образом, для поддержания микроциркуляторного и метаболического статуса тканей в области взрывной раны саногенетически обоснованным может быть однократное раннее (в первые часы после ранения) локальное введение аутологичной плазмы. Общий объем крови для приготовления биопрепарата и раневой кровопотери не должен превышать 15% ОЦК. Полученные

результаты обосновывают проведение углубленных исследований восстановительных эффектов локального околораневого введения аутологичной плазмы при взрывных повреждениях мягких тканей с разным объемом поврежденной ткани и кровопотери.

Регистрация протокола

План исследования зарегистрирован в федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ).

Доступ к данным

Доступ к первичным данным исследования ограничен и обусловлен спецификой деятельности ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Использование лабораторных животных в данном исследовании одобрено локальным Комитетом по этике федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (ул. Лесопарковая, д. 4, г. Санкт-Петербург, Россия) протокол № 13 от 22.06.2020 г. Условия содержания животных и работы с ними соответствовали принципам Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, ГОСТу 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденному Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии № 1700-ст от 20 ноября 2014 г.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

The use of laboratory animals in the present study was approved by the local Ethics Committee of the State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defence, Russian Federation (4 Lesoparkovaya Street, St. Petersburg, Russia), Minutes No. 13 dated June 22, 2020. The laboratory animal care has been organised in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki on the Animal Welfare, Directive 2010/63/EU "on the protection of animals used for scientific purposes" of 22 September 2010, GOST 33044-2014 "Principles of Good Laboratory Practice", approved by the Federal Agency on Technical Regulating and Metrology (order No. 1700-St, November 20, 2014).

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено согласно плану исследовательской работы ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ без привлечения сторонних источников финансирования.

FINANCING SOURCE

The study was carried out in accordance with the plan of research work of the State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defence, Russia, without any third-party sources of funding.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Parlak S., Beşler M.S. Ankara bombing: distribution of injury patterns with radiological imaging. *Pol. J. Radiol.* 2020; 85(2): e90–e96. DOI: 10.5114/pjr.2020.93394
2. Dunham M.P., Sartorius B., Laing G.L., Bruce J.L., Clarke D.L. A comparison of base deficit and vital signs in the early assessment of patients with penetrating trauma in a high burden setting. *Observational Study Injury.* 2017; 48(9): 1972–1977. DOI: 10.1016/j.injury.2017.06.011
3. Bemelmans Y., Van Haaren E., Boonen B., Hendrickx R., Schotanus M. Low blood transfusion rate after implementation of tranexamic acid for fast-track hip- and knee arthroplasty. An observational study of 5205 patients. *Acta Orthop. Belg.* 2021; 87(1): 9–16.
4. Шперлинг И.А., Виноградов М.В., Семакин Р.В., Шперлинг Н.В., Шулепов А.В., Ростовцев С.О., Коуров А.С., Баженов М.В. Микроциркуляторные и метаболические изменения в мягких тканях в динамике раневого процесса при взрывной травме в эксперименте. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2021; 41(5): 16–24. DOI: 10.18699/SSMJ20210502
5. 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
6. Everts P., Onishi K., Jayaram P., Lana J.F., Mautner K. Platelet-rich plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(20): 77–94. DOI: 10.3390/ijms21207794
7. Mosca M.J., Rodeo S.A. Platelet-rich plasma for muscle injuries: game over or time out? *Curr. Rev. Musculoskelet. Med.* 2015; 8(2): 145–153.
8. Gentile P., Calabrese C., De Angelis B., Dionisi L., Pizzicannella J., Kothari A., De Fazio D., Garcovich S. Impact of the different preparation methods to obtain autologous non-activated platelet-rich plasma (A-PRP) and activated platelet-rich plasma (AA-PRP) in plastic surgery: wound healing and hair regrowth evaluation. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(2): 431–440. DOI: 10.3390/ijms21020431
9. Creaney L., Hamilton B. Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: the state of play. *Br. J. Sports Med.* 2008; 42(5): 314–320. DOI: 10.1136/bjism.2007.040071
10. Shahidi M., Vatanmakanian M., Arami M.K., Sadeghi Shirazi F., Esmaeili N., Hydarporian S., Jafari S. A comparative study between platelet-rich plasma and platelet-poor plasma effects on angiogenesis. *Med. Mol. Morphol.* 2018; 51(1): 21–31. DOI: 10.1007/s00795-017-0168-5
11. Yang L., Ma J., Gan S., Chu S., Maldonado M., Zhou J., Ma L., Tang S. Platelet poor plasma gel combined with amnion improves the therapeutic effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on wound healing in rats. *Mol. Med. Rep.* 2017; 16(3): 3494–3502. DOI: 10.3892/mmr.2017.6961
12. Chio C.C., Hsu C.C., Tian Y.F., Wang C.H., Lin M.T., Chang C.P., Lin H.J. Combined hemorrhagic shock and unilateral common carotid occlusion induces neurological injury in adult male rats. *Int. J. Med. Sci.* 2017; 14(13):1327–1334. DOI: 10.7150/ijms.21022
13. Контрщикова К.Н., Шахова К.А., Янченко О.С., Тихомирова Ю.Р., Булат В.В., Булат А.В. Определение тромбоцитарных факторов роста в необогащенной тромбоцитами плазме. *Медицинский альманах.* 2018; 2(53): 41–44.
14. Sengupta D., Prax G. Imaging metabolic heterogeneity in cancer. *Mol. Cancer.* 2016; 15: 4–16. DOI: 10.1186/s12943-015-0481-3
15. Мороз В.В., Рыжков И.А. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция: обзор. Ч. I. *Общая реаниматология.* 2016; 12(2): 66–89. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-56-65
16. Васильев А.Г., Хайцев Н.В., Балашов А.Л., Балашов Л.Д., Кравцова А.А., Трашков А.П., Пахомова М.А. О патогенезе синдрома острой кровопотери. *Педиатр.* 2019; 10(3): 93–100. DOI: 10.17816/PED10393-100
17. Крупаткин А.И. Колебания кровотока — новый диагностический язык в исследовании микроциркуляции. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2014; 13(1): 83–99. DOI: 10.24884/1682-6655-2014-13-1-83-99
18. Kisrieva Y.S., Petushkova N.A., Samenkova N.F., Kuznetsova G.P., Larina O.V., Teryaeva N.B., Zgoda V.G., Karuzina I.I., Usachev D.U., Belyaev A.Y. Analysis of blood plasma protein composition in patients with cerebral ischemia. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018; 165(1): 22–26. DOI: 10.1007/s10517-018-4090-1
19. Haaga J., Rahim S., Kondray V., Davidson J., Patel I., Nakamoto D. Comparison of local injection of fresh frozen plasma to traditional methods of hemostasis in minimally invasive procedures. *Acad. Radiol.* 2018; 25(12): 1617–1623. DOI: 10.1016/j.acra.2018.03.001
20. Haaga J., Rahim S. Direct injection of blood products versus gelatin sponge as a technique for local he-

mostasis. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 2017; 40(2): 231–235. DOI: 10.1007/s00270-016-1494-z

147–153. DOI: 10.24412/2500-1000-2021-4-2-147-153

21. Контрощикова К.Н., Алейник Д.Я., Эрастов Е.Р., Булат В.В., Булат А.В., Контрощиков М.М., Булат А.А. Содержание факторов роста тромбоцитов в плазме и их влияние на диплоидные фибробласты в культуре. *Международный журнал гуманитарных и естественных наук.* 2021; 55 (4-2):

22. Taghavi S., Jackson-Weaver O., Abdullah S., Goldberg A., Lawicki S., Killackey M., Duchesne J., Pociask D., Steele C., Kolls J. A Comparison of growth factors and cytokines in fresh frozen plasma and never frozen plasma. *J. Surg. Res.* 2021; 264: 51–57. DOI: 10.1016/j.jss.2021.02.002

REFERENCES

1. Parlak S., Beşler M.S. Ankara bombing: distribution of injury patterns with radiological imaging. *Pol. J. Radiol.* 2020; 85(2): e90–e96. DOI: 10.5114/pjr.2020.93394

2. Dunham M.P., Sartorius B., Laing G.L., Bruce J.L., Clarke D.L. A comparison of base deficit and vital signs in the early assessment of patients with penetrating trauma in a high burden setting. *Observational Study Injury.* 2017; 48(9): 1972–1977. DOI: 10.1016/j.injury.2017.06.011

3. Bemelmans Y., Van Haaren E., Boonen B., Hendrickx R., Schotanus M. Low blood transfusion rate after implementation of tranexamic acid for fast-track hip- and knee arthroplasty. An observational study of 5205 patients. *Acta Orthop. Belg.* 2021; 87(1): 9–16.

4. Shperling I.A., Vinogradov M.V., Semakin R.V., Shperling N.V., Shulepov A.V., Rostovtsev S.O., Kourov A.S., Bazhenov M.V. Microcirculatory and metabolic changes in soft tissues in the dynamics of the wound process in explosive trauma with acute blood loss in an experiment. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2021; 41(5): 16–24 (In Russ.). DOI: 10.18699/SSMJ20210502

5. 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

6. Everts P., Onishi K., Jayaram P., Lana J.F., Mautner K. Platelet-rich plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(20): 77–94. DOI: 10.3390/ijms21207794

7. Mosca M.J., Rodeo S.A. Platelet-rich plasma for muscle injuries: game over or time out? *Curr. Rev. Musculoskelet. Med.* 2015; 8(2): 145–153.

8. Gentile P., Calabrese C., De Angelis B., Dionisi L., Pizzicannella J., Kothari A., De Fazio D., Garcovich S. Impact of the different preparation methods to obtain autologous non-activated platelet-rich plasma (A-PRP) and activated platelet-rich plasma (AA-PRP) in plastic surgery: wound healing and hair regrowth evaluation. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(2): 431–440. DOI: 10.3390/ijms21020431

9. Creaney L., Hamilton B. Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: the state of play. *Br. J. Sports Med.* 2008; 42(5): 314–320. DOI: 10.1136/bjism.2007.040071

10. Shahidi M., Vatanmakanian M., Arami M.K., Sadeghi Shirazi F., Esmaeili N., Hydarporian S., Jafari S. A comparative study between platelet-rich plasma and platelet-poor plasma effects on angiogenesis. *Med. Mol. Morphol.* 2018; 51(1): 21–31. DOI: 10.1007/s00795-017-0168-5

11. Yang L., Ma J., Gan S., Chu S., Maldonado M., Zhou J., Ma L., Tang S. Platelet poor plasma gel combined with amnion improves the therapeutic effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on wound healing in rats. *Mol. Med. Rep.* 2017; 16(3): 3494–3502. DOI: 10.3892/mmr.2017.6961

12. Chio C.C., Hsu C.C., Tian Y.F., Wang C.H., Lin M.T., Chang C.P., Lin H.J. Combined hemorrhagic shock and unilateral common carotid occlusion induces neurological injury in adult male rats. *Int. J. Med. Sci.* 2017; 14(13): 1327–1334. DOI: 10.7150/ijms.21022

13. Kontorschikova K.N., Shakhova K.A., Yanchenko O.S., Tikhomirova Yu.R., Bulat V.V., Bulat A.V. Determination of platelet-derived growth factors in platelet unenriched plasma. *Medicinskiy Almanah.* 2018; 2(53): 41–44 (In Russ.).

14. Sengupta D., Pratz G. Imaging metabolic heterogeneity in cancer. *Mol. Cancer.* 2016; 15: 4–16. DOI: 10.1186/s12943-015-0481-3

15. Moroz V.V., Ryzhkov I.A. Acute Blood Loss: Regional Blood Flow and Microcirculation. *General Reanimatology.* 2016; 12(2): 66–89 (In Russ.). DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-56-65

16. Vasil'ev A.G., Haitsev N.V., Balashov A.L., Balashov L.B., Kravtsova A.A., Trashkov A.P., Pahomova M.A. Pathogenesis of acute hemorrhage syndrome. *Pediatrician (St. Petersburg).* 2019; 10(3): 93–100 (In Russ.). DOI: 10.17816/PED10393-100

17. Krupatkin A.I. Blood flow oscillations — new diagnostic language in microvascular research. *Regional blood circulation and microcirculation.* 2014; 13(1): 83–99 (In Russ.). DOI: 10.24884/1682-6655-2014-13-1-83-99

18. Kisrieva Y.S., Petushkova N.A., Samenkova N.F., Kuznetsova G.P., Larina O.V., Teryaeva N.B., Zgoda V.G., Karuzina I.I., Usachev D.U., Belyaev A.Y. Analysis of blood plasma protein composition in patients with cerebral ischemia. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018; 165(1): 22–26. DOI: 10.1007/s10517-018-4090-1

19. Haaga J., Rahim S., Kondray V., Davidson J., Patel I., Nakamoto D. Comparison of local injection of fresh frozen plasma to traditional methods of hemostasis in

- minimally invasive procedures. *Acad. Radiol.* 2018; 25(12): 1617–1623. DOI: 10.1016/j.acra.2018.03.001
20. Haaga J., Rahim S. Direct injection of blood products versus gelatin sponge as a technique for local hemostasis. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 2017; 40(2): 231–235. DOI: 10.1007/s00270-016-1494-z
21. Kontorshchikova K.N., Aleinik D.Ya., Erastov E.R., Bulat V.V., Bulat A.V., Kontorshchikov M.M., Bulat A.A. Content of plate growth factors in plasma and their influence on diploid fibroblasts in culture. *International Journal of Humanities and Natural Sciences.* 2021; 55 (4-2): 147–153 (In Russ.). DOI: 10.24412/2500-1000-2021-4-2-147-153
22. Taghavi S., Jackson-Weaver O., Abdullah S., Goldberg A., Lawicki S., Killackey M., Duchesne J., Pociask D., Steele C., Kolls J. A Comparison of growth factors and cytokines in fresh frozen plasma and never frozen plasma. *J. Surg. Res.* 2021; 264: 51–57. DOI: 10.1016/j.jss.2021.02.002

ВКЛАД АВТОРОВ

Шулепов А.В.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследований, в частности, сбор данных, анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Визуализация — подготовка визуализации данных.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление животных, лабораторных образцов для анализа.

Шперлинг И.А.

Разработка концепции — формирование идеи; формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Юркевич Ю.В.

Разработка концепции — формирование идеи; формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы,

целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Шперлинг Н.В.

Разработка концепции — формирование идеи; формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования, в частности анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного замечания интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление животных, лабораторных образцов для анализа.

Виноградов М.В.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования, в частности сбор данных.

Подготовка и редактирование текста — участие в научном дизайне; подготовка, создание опубликованной работы.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Визуализация — подготовка визуализации данных.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление животных, лабораторных образцов для анализа.

Коуров А.С.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследований, в частности сбор данных.

Подготовка и редактирование текста — участие в научном дизайне; подготовка, создание опубликованной работы.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Проведение статистического анализа — применение статистических, математических, вычислительных или других формальных методов для анализа и синтеза данных.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление реагентов, материалов, лабораторных образцов, измерительных приборов, и иных инструментов для анализа.

Романов П.А.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследований, в частности сбор данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного замечания интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Визуализация — подготовка визуализации данных.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление реагентов, материалов, лабораторных образцов, измерительных приборов, и иных инструментов для анализа.

Васильев С.Б.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследований, в частности сбор данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного замечания интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Проведение статистического анализа — применение статистических, математических, вычислительных или других формальных методов для анализа и синтеза данных.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление реагентов, материалов, лабораторных образцов, измерительных приборов, и иных инструментов для анализа.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Shulepov A.V.

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, in particular, data collection, analysis and interpretation of the data obtained.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript, its critical review with the introduction of valuable intellectual content and remarks; contribution to the scientific layout.

The approval of the final version of the paper — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper and its final version.

Visualisation — preparation of data visualisation.

Resource support of the research — the provision of animals and laboratory samples for analysis.

Shperling I.A.

Conceptualisation — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript, its critical review with the introduction of valuable intellectual content and remarks; contribution to the scientific layout.

The approval of the final version of the paper — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper and its final version.

Yurkevich Y.V.

Conceptualisation — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript, its critical review with the introduction of valuable intellectual content and remarks; contribution to the scientific layout.

The approval of the final version of the paper — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper and its final version.

Shperling N.V.

Conceptualisation — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content and remarks.

The approval of the final version of the paper — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper and its final version.

Resource support of the research — the provision of animals and laboratory samples for analysis.

Vinogradov M.V.

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, in particular data collection.

Text preparation and editing — contribution to the scientific layout; preparation, creation of published work.

The approval of the final version of the paper — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper and its final version.

Visualisation — preparation of data visualisation.

Resource support of the research — the provision of animals and laboratory samples for analysis.

Kourov A.S.

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, in particular data collection.

Text preparation and editing — contribution to the scientific layout; preparation, creation of published work.

The approval of the final version of the paper — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper and its final version.

Conducting statistical analysis — application of statistical, mathematical, computational or other formal methods for the analysis and synthesis of data.

Resourcing of the study — provision of reagents, materials, laboratory samples, measuring devices, and other tools for analysis.

Romanov P.A.

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, in particular data collection.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content and remarks.

The approval of the final version of the paper — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper and its final version.

Visualisation — preparation of data visualisation.

Resourcing of the study — provision of reagents, materials, laboratory samples, measuring devices, and other tools for analysis.

Vasiliev S.B.

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, in particular data collection.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content and remarks.

The approval of the final version of the paper — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper and its final version.

Conducting statistical analysis — application of statistical, mathematical, computational or other formal methods for the analysis and synthesis of data.

Resourcing of the study — provision of reagents, materials, laboratory samples, measuring devices, and other tools for analysis.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шулепов Александр Васильевич* — кандидат медицинских наук; научный сотрудник научно-исследовательского испытательного центра федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-6134-809X>

Контактная информация: e-mail: soash@mail.ru; тел.: +7 (921) 753-94-65;

ул. Лесопарковая, д. 4, г. Санкт-Петербург, 195043, Россия.

Шперлинг Игорь Алексеевич — доктор медицинских наук, профессор; заместитель начальника научно-исследовательского испытательного центра федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-7029-8602>

Aleksandr V. Shulepov* — Cand. Sci. (Med.); Researcher at the Scientific Research Test Center of the State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defence of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-6134-809X>

Contact information: e-mail: soash@mail.ru; tel.: +7 (921) 753-94-65;

Lesoparkovaya str., 4, Saint-Petersburg, 195043, Russia.

Igor A. Shperling — Dr. Sci. (Med.), Prof.; Deputy Head of the Scientific Research Test Center of the State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defence of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-7029-8602>

Юркевич Юрий Васильевич — доктор медицинских наук, профессор; старший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного центра федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-9385-7104>

Шперлинг Наталья Владимировна — доктор медицинских наук; научный сотрудник научно-исследовательского испытательного центра федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-7865-486X>

Виноградов Михаил Владимирович — соискатель ученой степени кандидата медицинских наук; начальник хирургического отделения филиала № 2 федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0001-5826-6061>

Коуров Антон Сергеевич — соискатель ученой степени кандидата медицинских наук; начальник хирургического отделения филиала № 2 федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0001-6905-2501>

Романов Павел Алексеевич — кандидат медицинских наук; начальник отдела научно-исследовательского испытательного центра федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0001-6839-8324>

Васильев Станислав Борисович — научный сотрудник научно-исследовательского испытательного центра федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-0633-8585>

Yuri V. Yurkevich — Dr. Sci. (Med.), Prof.; Senior Researcher at the Scientific Research Test Center of the State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defence of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-9385-7104>

Nataliya V. Shperling — Dr. Sci. (Med.), Researcher at the Scientific Research Test Center of the State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defence of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-7865-486X>

Mikhail V. Vinogradov — Applicant for Cand. Sci. (Med.), Head of the Surgical Department, Branch No. 2 of the State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defence of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0001-5826-6061>

Anton S. Kourov — Applicant for Cand. Sci. (Med.), Head of the Surgical Department, Branch No. 2 of the State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defence of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0001-6905-2501>

Pavel A. Romanov — Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of the Scientific Research Test Center of the State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defence of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0001-6839-8324>

Stanislav B. Vasiliev — Researcher of the Scientific Research Test Center of the State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry of Defence of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-0633-8585>

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author