

СОДЕРЖАНИЕ КЛЕТОК В ЗОНАХ ДЕРМЫ КРЫС В НОРМЕ И НА ФОНЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИИ ПОСЛЕ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЫ

*Н.А. Шутский**/** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0979-1569>

*С.Л. Кашутин** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2687-3059>

*Л.Л. Шагров**/** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2655-9649>

*С.И. Малявская** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2521-0824>

*Н.С. Холопов**/** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5604-5257>

*Северный государственный медицинский университет
(г. Архангельск)

**Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова
(г. Архангельск)

Локальные холодовые повреждения не являются редкостью в зонах с неблагоприятными климатическими условиями. Значимость проблемы связана с большим числом таких травм, сложностью лечения, длительностью периода нетрудоспособности и высоким уровнем инвалидизации населения. Отягчающими факторами холодовых повреждений являются метаболические отклонения, которые могут приводить к развитию сердечно-сосудистых заболеваний, а следовательно, и к нарушениям микроциркуляции. **Цель** настоящей работы – проследить динамику клеточных структур дермы в процессе восстановления после локального холодового повреждения у крыс с метаболическим синдромом в сравнении с восстановительным процессом у крыс без нарушений. **Материалы и методы.** Исследование проводили на беспородных крысах. Развитие ожирения и нарушение метаболических процессов моделировали путем включения в рацион питания 30 %-го раствора сахарозы вместо воды, а также насыщенных жиров. Локальное холодовое повреждение моделировали путем прикладывания к депилированной коже спины животных охлажденной в жидком азоте металлической гирьки диаметром 2,5 см. Динамику клеток исследовали в зонах сосочковой, сетчатой дермы и в сетчатой дерме на границе с гиподермой поврежденного участка и его периферии с использованием морфометрической сетки. **Результаты.** Полученные данные позволяют утверждать, что регенеративные изменения после локальной холодовой травмы у крыс связаны со скоплением клеток на границе сетчатой дермы и гиподермы зоны повреждения, при этом отмечаются более позднее

Ответственный за переписку: Шутский Никита Алексеевич, адрес: 163001, г. Архангельск, просп. Троицкий, д. 51; e-mail: nikitashutskijj@rambler.ru

Для цитирования: Шутский Н.А., Кашутин С.Л., Шагров Л.Л., Малявская С.И., Холопов Н.С. Содержание клеток в зонах дермы крыс в норме и на фоне метаболического синдрома при восстановлении после холодовой травмы // Журн. мед.-биол. исследований. 2022. Т. 10, № 2. С. 87–99. DOI: 10.37482/2687-1491-Z094

наступление пика миграционного процесса и большее количество клеток, вовлеченных в миграцию, в условиях метаболического синдрома в сравнении с регенерацией раневой поверхности при отсутствии метаболических нарушений. Вполне вероятно, что в процесс регенерации пораженного участка включаются все исследуемые зоны дермы, особенно дерма на границе с гиподермой, тогда как на периферии поврежденного участка – преимущественно зона дермы, расположенная на границе сетчатой дермы и гиподермы.

Ключевые слова: зоны дермы, дермальные клетки, локальное холодовое повреждение, восстановительный период, метаболический синдром.

Исследования процессов регенерации тканей в постхолодовой период в настоящее время востребованы в связи с освоением Арктики, которой свойственны чрезвычайно низкие температуры [1–3]. Кроме того, проблемы холодовой травмы имеют огромное социальное значение, особенно для районов Сибири и Крайнего Севера, в которых эта травма является краевой патологией и носит выраженный сезонный характер [2]. Важность изучения холодовых поражений обусловлена не столько относительно большим их числом, сколько сложностью лечения, длительностью утраты трудоспособности и высоким уровнем инвалидизации населения [4–6].

Холодовые повреждения классифицируются на 4 степени по глубине поражения тканей [7, 8]. Поверхностными отморожениями являются повреждения I и II степеней, которые сопровождаются полным восстановлением без образования рубцов, а травмы III и IV степеней считаются глубокими отморожениями, при которых требуется относительно длительное лечение, иногда даже с несколькими оперативными вмешательствами, и которые нередко приводят к инвалидности. Данный аспект обуславливает актуальность проблемы не только в районах Крайнего Севера и Сибири, но и в умеренных климатических зонах [9].

Изучению репаративных процессов в кожных покровах посвящены работы, описывающие морфологические изменения слоев кожи [5, 6, 10–13]. Исследователи предположили, что во время глубоких холодовых поврежде-

ний происходит клеточно-опосредованная воспалительная реакция, приводящая к прогрессирующей ишемии и некрозу тканей, аналогично реакции, наблюдаемой после ишемическо-реперфузионного повреждения. Такое повреждение описывают как парадоксальное обострение клеточной дисфункции и гибели после восстановления кровотока в ранее ишемизированных тканях [14].

Известно, что при глубоком холодовом повреждении видимые гистологические изменения во всех слоях дермы происходят через 20 мин. В протоплазме клеток эпидермиса появляются вакуоли, в других случаях изменения к этому сроку состоят в потере протоплазмы способности к окрашиванию [14, 15]. Также в это время развивается воспаление. Спустя 3 ч в зоне, расположенной под дермой, отмечается выраженный сплошной слой фибрина. Также спустя 3 ч наблюдается отек всех слоев кожи с лейкоцитарной инфильтрацией. В период от 2 до 4 дней после холодовой травмы усиливаются явления регенерации и воспалительного отграничения некроза. На 5–7-й день происходят процессы демаркации. Отслоившийся и омертвевший эпидермис, хорошо выраженный к 5-му дню в виде пузырей, к 7-му дню постепенно претерпевает дальнейшие изменения. Пузыри лопаются или сморщиваются, отек уменьшается, начинаются высыхание и мумификация периферических участков кожи. При поражении росткового слоя кожи происходит замещение омертвевшего участка

рубцовой тканью, и регенерация элементов кожи не наступает. Больше всего претерпевают изменения кожные дериваты: сальные, потовые железы, эпителий волосяных влагалищ. Стоит отметить, что при отморожении III степени происходит некроз кожи и подкожной клетчатки. Участки поражения после отторжения некротизированных тканей заживают с образованием рубца [1, 11].

Таким образом, современные исследования касаются в основном изучения патоморфологических признаков отморожений в постхолодовом периоде без учета локализации клеток в различных слоях дермы и времени наступления пика миграции.

Некротические и дистрофические поражения клеток связаны в первую очередь с нарушением микроциркуляции в тканях при чрезвычайном холодовом воздействии, гипоксией, активацией перекисного окисления липидов [15]. Метаболические или гормональные отклонения на основе инсулинорезистентности и компенсаторной гиперинсулинемии, которые могут приводить к развитию сердечно-сосудистых заболеваний, а следовательно, и к нарушениям микроциркуляции, являются отягчающими факторами, усиливающими последствия холодовых повреждений [16–18].

В связи со значительной распространенностью метаболического синдрома и частой встречаемостью холодовой травмы вследствие разных причин по всей России, особенно в условиях климата северных широт, высока вероятность одновременного наличия их у одного человека. Неясным остается тот факт, оказывает ли метаболический синдром влияние на длительность и качество восстановления кожных покровов после холодовой травмы.

Цель настоящего исследования – выявление особенностей динамики клеточных структур слоев дермы в процессе ее восстановления после локального холодового повреждения у крыс с метаболическим синдромом.

Материалы и методы. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям этического комитета Северного государственного медицинского университета (СГМУ) Минздрава России (протокол № 05/06-18 от 28.06.2018 г.).

Эксперимент выполняли на базе вивария СГМУ Минздрава России (г. Архангельск). Развитие ожирения и нарушение метаболических процессов у беспородных 26-дневных крысят моделировали путем включения в рацион питания 30 %-го раствора сахарозы вместо воды, а также насыщенных жиров (масла жирностью 82,5 % в количестве 4 г на одну особь в день; по истечении 30 дней повышали суточное количество масла до 5 г на крысу, еще через 30 дней – до 6 г) [19].

По истечении 30 дней у лабораторных крыс оценивали чувствительность к глюкозе с помощью глюкозотолерантного теста. Для этого вводили раствор глюкозы (2 г/кг) внутривентриально и в течение 120 мин в крови, полученной из хвостовой вены, измеряли ее концентрацию. В первую опытную группу отбирали животных ($n = 25$) с нарушенной толерантностью к глюкозе и повышенной массой тела. Вторая опытная группа была представлена крысами ($n = 80$) без метаболического синдрома. В качестве контрольной группы ($n = 20$) были использованы беспородные крысы, содержащиеся на стандартном пищевом режиме.

Далее у крыс опытных групп моделировали локальное холодовое повреждение III степени путем прикладывания к депилированной коже спины животных охлажденной в жидком азоте металлической гирьки диаметром 2,5 см [20].

Животных выводили из опыта путем передозировки средства для наркоза на 3, 7, 14 и 21-е сутки (по 5 особей). Для гистологических исследований проводили забор биоптатов пораженной кожи с окружающим неповрежденным участком и последующую фиксацию об-

разцов в 10 %-м забуференном формалине. После классической гистологической проводки из парафиновых блоков на микротоме Reichert (Австрия) получали серийные срезы толщиной 5–10 мкм, которые в дальнейшем окрашивали по Ван Гизону. На *рис. 1* представлен пример гистологического среза кожи лабораторного

но различием в интенсивности миграции к месту повреждения.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью SPSS 13.0 для Windows. Для описания выборок использовали подсчет медианы (Me) и межквартильного интервала (Q_{25} ; Q_{75}). Вероятность различий оценивали по

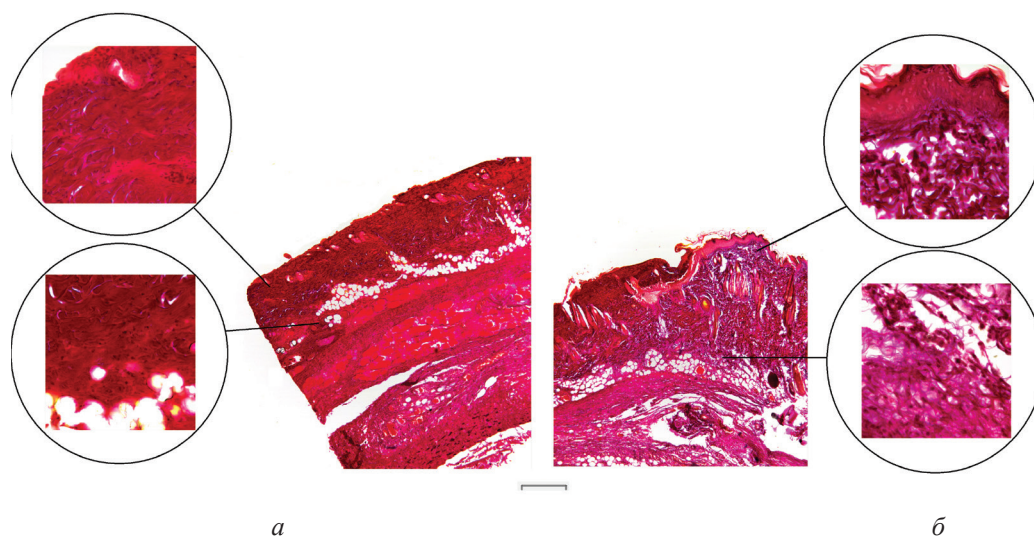


Рис. 1. Поврежденный участок (*a*) и периферия (*б*) кожи крысы на 7-е сутки после локального холодового повреждения (масштабная линейка – 25 мкм)

Fig. 1. Damaged area (*a*) and periphery (*b*) of rat skin on the 7th day after local cold injury (scale bar 25 μm)

животного на 7-е сутки после локального холодового повреждения. Снимок был получен на микроскопе Axio Score.A1 (Германия) при помощи аппаратно-программного комплекса «Мекос-Ц2».

Динамику клеток исследовали в зонах сосочковой, сетчатой дермы и на границе сетчатой дермы и гиподермы поврежденного участка и в тех же зонах участка, находящегося в непосредственной близости (периферии), с использованием морфометрической сетки, предложенной А.А. Глаголевым и модифицированной Г.Г. Автандиловым [21]. Подсчитывали количество клеток на единице площади (0,16 мм²). Изучение количества клеток в различных зонах дермы обусловле-

непараметрическим критериям Колмогорова–Смирнова (Z) и Уилкоксона (W), критическим уровнем значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты

Динамика содержания клеток в поврежденном участке. В сосочковой дерме (*рис. 2*) увеличение количества клеток на единице площади наблюдалось уже на 3-и сутки после локального холодового повреждения как у крыс без метаболического синдрома (с 0,0 (0,0; 1,0) до 2,0 (1,3; 2,0); $Z = 2,37$; $p = 0,001$), так и на его фоне (с 0,0 (0,0; 1,0) до 1,0 (1,0; 2,0); $Z = 2,37$; $p = 0,001$). На 7-е сутки эксперимента количество клеток в сосочковой дерме крыс с метаболическим синдромом достигло максимальных значений (4,0 (2,8; 4,5); $Z = 2,14$; $p = 0,01$),

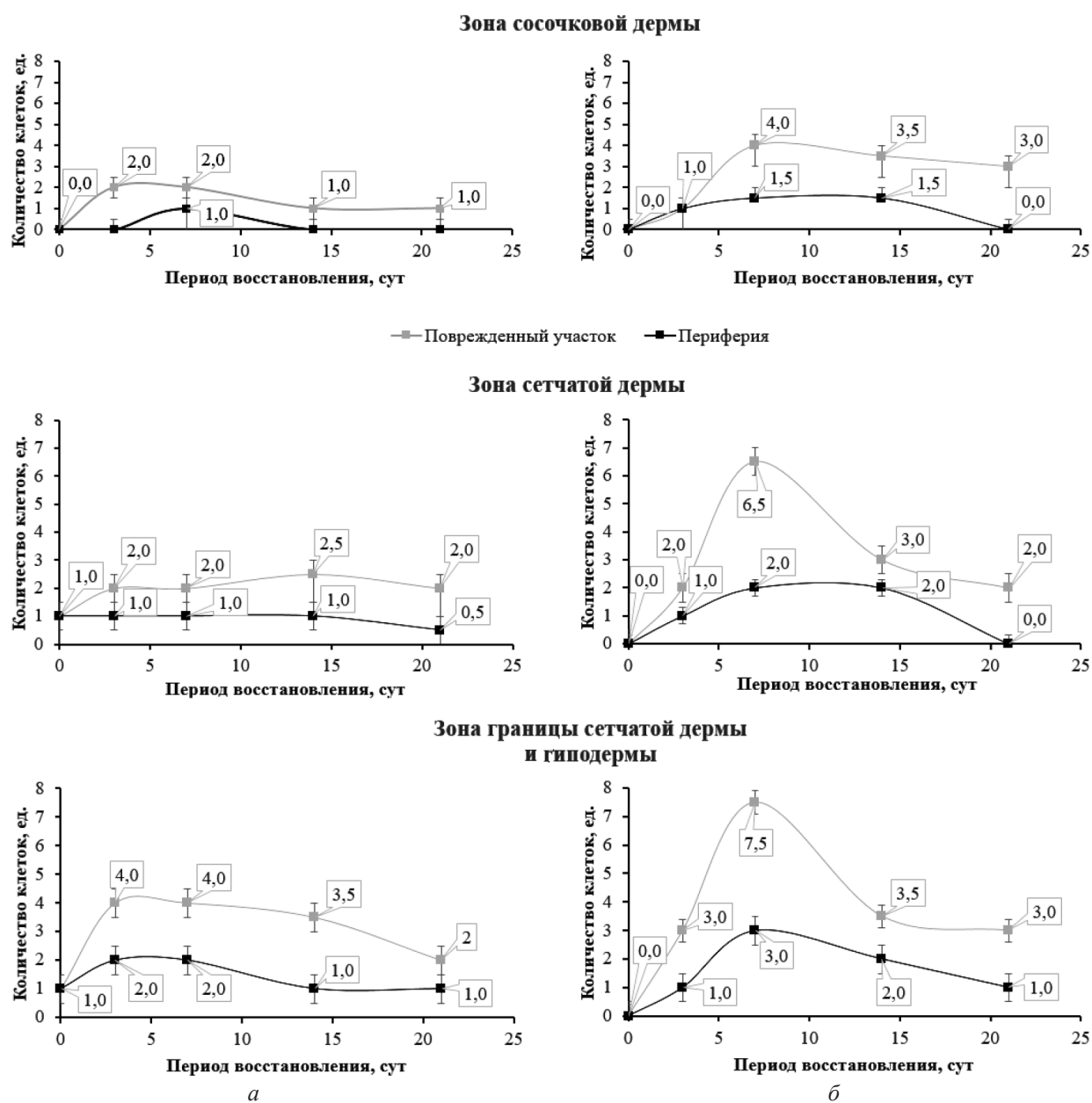


Рис. 2. Динамика медиан количества клеток дермы после локальной холодовой травмы у крыс в норме (а) и на фоне метаболического синдрома (б)

Fig. 2. Dynamics of the median number of dermal cells after local cold injury in healthy rats (а) and in rats with metabolic syndrome (б)

в то же время у крыс без метаболического синдрома этот показатель не изменился в сравнении с данными, полученными на 3-и сут-

ки эксперимента (2,0 (1,0; 2,0) и 2,0 (1,3; 2,0); $Z = 1,46; p = 0,26$). К 14-м суткам отмечалось снижение количества клеток на единице площади в

обеих группах: у крыс без метаболического синдрома регистрировалось уменьшение показателя до уровня 1,0 (1,0; 2,0), что значительно ниже, чем у крыс с метаболическим синдромом – 3,5 (1,8; 4,5) ($Z = 1,79; p = 0,001$). Дальнейшее уменьшение показателя продолжилось только в группе крыс с метаболическим синдромом, достигнув на 21-е сутки эксперимента 3,0 (0,0; 3,0). У крыс без метаболического синдрома концентрация клеток на единице площади сохранялась на уровне 1,0 (1,0; 2,0). Таким образом, к 21-м суткам после локальной холодовой травмы количество клеток в сосочковой дерме хоть и снизилось, но все равно отличалось от контроля у крыс как без метаболического синдрома ($Z = 1,58; p = 0,01$), так и на его фоне ($Z = 1,62; p = 0,01$).

В сетчатой дерме у крыс без метаболического синдрома увеличение количества клеток на единице площади регистрировали уже на 3-и сутки – с 1,0 (0,0; 1,0) до 2,0 (1,0; 3,0); $Z = 2,21; p = 0,01$. У крыс с метаболическим синдромом количество клеток статистически значимо возросло на 7-е сутки (с 1,0 (0,0; 1,0) до 6,5 (5,5; 7,0); $Z = 2,14; p = 0,001$). Затем регистрировалось только снижение: на 14-е сутки – до 3,0 (2,0; 4,8) ($Z = 2,14; p = 0,001$) и на 21-е сутки – до 2,0 (1,0; 3,0) ($Z = 1,62; p = 0,01$), причем значения так и не достигли контрольных. У крыс без метаболического синдрома медиана изучаемого показателя практически не изменялась в течение всего периода наблюдения и к 21-м суткам также не вернулась к значению контроля, составив 2,0 (1,0; 2,0) ($Z = 2,06; p = 0,01$).

На границе сетчатой дермы и гиподермы статистически значимое увеличение количества клеток на единице площади отмечалось на 3-и сутки у крыс без метаболического синдрома – до 4,0 (3,0; 4,0) ($Z = 2,68; p = 0,010$) – и на 7-е сутки у крыс с метаболическим синдромом – до 7,5 (6,5; 8,0) ($Z = 2,14; p = 0,01$). После этого показатель снижался в обеих группах, и к 21-м суткам его значение составило 2,0 (2,0; 3,0) ($Z = 1,58; p = 0,01$) у крыс без синдрома и 3,0 (2,0; 4,0) ($Z = 1,59; p = 0,01$) у крыс с синдромом, снова не достигнув контрольных значений.

Динамика содержания клеток на границе пораженного и непораженного участков. В сосочковой дерме крыс без метаболического синдрома концентрация клеток не претерпела каких-либо значимых изменений на протяжении всего постхолодового периода. У крыс с метаболическим синдромом регистрировалась только тенденция к увеличению данного показателя на 3-и (с 0,0 (0,0; 1,0) до 1,0 (1,0; 1,0); $Z = 1,36; p = 0,05$), 7-е (до 1,5 (1,0; 2,0); $Z = 1,28; p = 0,07$) и 14-е (до 1,5 (1,0; 3,0); $Z = 1,28; p = 0,07$) сутки; к 21-м суткам значение содержания клеток на единице площади уже не отличалось от контроля – 0,0 (0,0; 1,0) ($Z = 0,26; p = 1,00$).

В сетчатой дерме у крыс без метаболического синдрома также не зафиксировано статистически значимых изменений в содержании клеток на единице площади. На фоне метаболического синдрома в данной зоне регистрировалось увеличение концентрации клеток на 7-е (с 1,0 (0,0; 1,0) до 2,0 (1,8; 2,0); $Z = 1,79; p = 0,001$) и 14-е (до 2,0 (1,0; 2,3); $Z = 1,43; p = 0,03$) сутки; на 21-е сутки наблюдалось снижение данного показателя, что привело к исчезновению статистически значимого различия с контрольными данными (0,0 (0,0; 1,0); $Z = 0,92; p = 0,36$).

На границе сетчатой дермы и гиподермы увеличение содержания клеток на единице площади отмечалось на 3-и сутки после холодового повреждения у крыс без метаболического синдрома (с 1,0 (1,0; 2,0) до 2,0 (1,0; 3,0); $Z = 1,42; p = 0,04$) и на 7-е сутки у крыс с метаболическим синдромом (с 1,0 (1,0; 2,0) до 3,0 (2,8; 3,3); $Z = 1,79; p = 0,001$). На 21-е сутки наблюдалось возвращение количества клеток к значениям контроля (1,0 (1,0; 1,8); $Z = 0,32; p = 1,00$ и 1,0 (0,0; 1,0); $Z = 0,65; p = 0,79$ у крыс без метаболического синдрома и с ним соответственно).

Сравнение содержания клеток в различных слоях дермы (табл. 1, 2). У крыс без метаболического синдрома (табл. 1) в поврежденном участке значительно большее количество клеток на единице площади установлено на границе сетчатой дермы, и гиподермы, чем в том же участке сосочковой и сетчатой зоны дермы,

Таблица 1

**ЧИСЛО КЛЕТОК НА ЕДИНИЦЕ ПЛОЩАДИ В РАЗЛИЧНЫХ ЗОНАХ ДЕРМЫ
ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОГО ХОЛОДОВОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ
У КРЫС БЕЗ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА, $Me (Q_{25}; Q_{75})$**
**QUANTITY OF CELLS PER UNIT AREA IN VARIOUS DERMAL ZONES AFTER LOCAL COLD INJURY
IN RATS WITHOUT METABOLIC SYNDROME, $Me (Q_{25}; Q_{75})$**

Период восстанов- ления, сут	Сосочковая дерма		Сетчатая дерма		Граница сетчатой дермы и гиподермы		Уровень значимости различий (критерий Уилкоксона)
	поврежденный участок (1)	периферия (2)	поврежденный участок (3)	периферия (4)	поврежденный участок (5)	периферия (6)	
3	2,0 (1,3; 2,0)	0,0 (0,0; 1,0)	2,0 (2,0; 3,8)	1,0 (0,0; 1,0)	4,0 (3,0; 4,0)	2,0 (1,0; 3,0)	$p_{1-2} = 0,01$ $p_{1-3} = 0,22$ $p_{1-5} = 0,01$ $p_{2-4} = 0,02$ $p_{2-6} = 0,01$ $p_{3-4} = 0,01$ $p_{3-5} = 0,01$ $p_{4-6} = 0,01$ $p_{5-6} = 0,01$
7	2,0 (1,0; 2,0)	1,0 (0,0; 1,0)	2,0 (2,0; 3,8)	1,0 (0,0; 1,8)	4,0 (3,3; 6,0)	2,0 (1,0; 2,0)	$p_{1-2} = 0,01$ $p_{1-3} = 0,01$ $p_{1-5} = 0,01$ $p_{2-4} = 1,00$ $p_{2-6} = 0,02$ $p_{3-4} = 0,01$ $p_{3-5} = 0,01$ $p_{4-6} = 0,01$ $p_{5-6} = 0,01$
14	1,0 (1,0; 2,0)	0,0 (0,0; 1,0)	2,5 (2,0; 3,0)	1,0 (0,0; 1,0)	3,5 (2,0; 4,0)	1,0 (1,0; 1,8)	$p_{1-2} = 0,01$ $p_{1-3} = 0,01$ $p_{1-5} = 0,01$ $p_{2-4} = 0,24$ $p_{2-6} = 0,02$ $p_{3-4} = 0,01$ $p_{3-5} = 0,03$ $p_{4-6} = 0,02$ $p_{5-6} = 0,01$
21	1,0 (1,0; 2,0)	0,0 (0,0; 1,0)	2,0 (1,0; 2,0)	0,5 (0,0; 1,0)	2,0 (2,0; 3,0)	1,0 (1,0; 1,8)	$p_{1-2} = 0,01$ $p_{1-3} = 0,14$ $p_{1-5} = 0,01$ $p_{2-4} = 0,44$ $p_{2-6} = 0,01$ $p_{3-4} = 0,01$ $p_{3-5} = 0,03$ $p_{4-6} = 0,01$ $p_{5-6} = 0,01$

Примечание. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($p < 0,05$).

Таблица 2

**ЧИСЛО КЛЕТОК НА ЕДИНИЦЕ ПЛОЩАДИ В РАЗЛИЧНЫХ ЗОНАХ ДЕРМЫ
ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОГО ХОЛОДОВОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ
У КРЫС С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ, $Me (Q_{25}; Q_{75})$
QUANTITY OF CELLS PER UNIT AREA IN VARIOUS DERMAL ZONES
AFTER LOCAL COLD INJURY IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME, $Me (Q_{25}; Q_{75})$**

Период восстанов- ления, сут	Сосочковая дерма		Сетчатая дерма		Граница сетчатой дермы и гиподермы		Уровень значимости различий (критерий Уилкоксона)
	поврежденный участок (1)	периферия (2)	поврежденный участок (3)	периферия (4)	поврежденный участок (5)	периферия (6)	
3	1,0 (1,0; 2,0)	1,0 (1,0; 1,0)	2,0 (1,0; 3,0)	1,0 (1,0; 2,0)	3,0 (1,0; 3,0)	1,0 (1,0; 3,0)	$p_{1-2} = 0,56$ $p_{1-3} = 0,13$ $p_{1-5} = 0,07$ $p_{2-4} = 0,66$ $p_{2-6} = 0,28$ $p_{3-4} = 0,14$ $p_{3-5} = 0,56$ $p_{4-6} = 0,16$ $p_{5-6} = 0,36$
7	4,0 (2,8; 4,5)	1,5 (1,0; 2,0)	2,0 (2,0; 3,8)	2,0 (1,8; 2,0)	7,5 (6,5; 8,0)	3,0 (2,8; 3,3)	$p_{1-2} = 0,01$ $p_{1-3} = 0,02$ $p_{1-5} = 0,02$ $p_{2-4} = 0,16$ $p_{2-6} = 0,02$ $p_{3-4} = 0,02$ $p_{3-5} = 0,03$ $p_{4-6} = 0,04$ $p_{5-6} = 0,02$
14	3,5 (1,8; 4,5)	1,5 (1,0; 3,0)	2,5 (2,0; 3,0)	2,0 (1,0; 2,3)	3,5 (2,0; 5,5)	2,0 (1,0; 2,3)	$p_{1-2} = 0,16$ $p_{1-3} = 0,66$ $p_{1-5} = 0,48$ $p_{2-4} = 1,00$ $p_{2-6} = 0,99$ $p_{3-4} = 0,06$ $p_{3-5} = 0,41$ $p_{4-6} = 1,00$ $p_{5-6} = 0,04$
21	3,0 (0,0; 3,0)	0,0 (0,0; 1,0)	2,0 (1,0; 2,0)	0,0 (0,0; 1,0)	3,0 (2,0; 4,0)	1,0 (0,0; 1,0)	$p_{1-2} = 0,04$ $p_{1-3} = 0,26$ $p_{1-5} = 0,08$ $p_{2-4} = 0,56$ $p_{2-6} = 0,06$ $p_{3-4} = 0,02$ $p_{3-5} = 0,02$ $p_{4-6} = 0,06$ $p_{5-6} = 0,02$

Примечание. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($p < 0,05$).

на протяжении всего периода эксперимента. Подобные результаты наблюдались и в зонах дермы, находящихся в непосредственной близости от поврежденного участка.

В условиях метаболического синдрома максимальное скопление клеток отмечалось также на границе сетчатой дермы и гиподермы, но только на 7-е и 21-е сутки (*табл. 2*). На 3-и и 14-е сутки статистически значимых различий в содержании клеток на единице площади между изучаемыми зонами дермы не регистрировалось.

Обсуждение. Результаты проведенного исследования согласуются с современными представлениями о регенеративных процессах после локальных холодовых повреждений [10, 11, 14, 16]. Таким образом, после холодовой травмы в поврежденном участке максимальное содержание клеток во всех изучаемых зонах дермы (в сосочковой и сетчатой, а также на границе сетчатой дермы и гиподермы) при наличии метаболического синдрома достигается позднее – на 7-е сутки, тогда как без метаболического синдрома – уже на 3-и сутки. Учитывая, что количество клеток на единице площади в сосочковой и сетчатой зонах, а также на границе сетчатой дермы и гиподермы у крыс с метаболическим синдромом статистически значимо больше, чем у крыс без него, можно полагать, что в условиях метаболического синдрома пик миграционного процесса наступает позже при большем количестве клеток, вовлеченных в миграцию. Скорее всего, это связано с нарушениями микроциркуляции сосудов у крыс с метаболическим синдромом [16].

Исследование показало, что у крыс обеих групп в сосочковой и сетчатой дерме, расположенной на периферии участка повреждения, количество клеток на единице площади практически не отличается от контрольных данных на всем протяжении наблюдения в

постхолодовом периоде. Напротив, на границе сетчатой дермы и гиподермы регистрировалось статистически значимое увеличение концентрации клеток на 3-и сутки у крыс без метаболического синдрома и на 7-е сутки – в группе крыс с метаболическими нарушениями. Вполне вероятно, что в процесс регенерации в участке повреждения вовлекаются зоны сосочковой и сетчатой дермы, и особенно зона дермы на границе с гиподермой, тогда как на периферии поврежденного участка – преимущественно зона дермы, расположенная на границе сетчатой дермы и гиподермы. Учитывая, что к концу эксперимента на периферии поврежденного участка наблюдалось возвращение количества клеток к значениям группы контроля, чего не происходило в центре поврежденного участка, можно полагать, что именно граница сетчатой дермы и гиподермы очага повреждения – основное место регенеративных процессов в постхолодовом периоде. Факт увеличения клеток на периферии поврежденного участка у крыс без метаболического синдрома на 3-и сутки и у крыс с метаболическими нарушениями на 7-е сутки также может свидетельствовать в пользу предположения, что в условиях метаболического синдрома пик миграционного процесса наступает позже.

Итак, после локальной холодовой травмы регенеративные изменения связаны с концентрацией клеток в зоне, находящейся на границе сетчатой дермы и гиподермы поврежденного участка, при этом характерной особенностью регенерации раневой поверхности у крыс с метаболическим синдромом является более позднее наступление пика миграционного процесса и большее количество клеток, вовлеченных в миграцию.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Груздева О.С. Патологическая анатомия отморожений // Забайкал. мед. вестн. 2020. № 4. С. 137–144.
2. Лазаренко В.А., Ляшев Ю.Д., Шевченко Н.И. Эффекты синтетического аналога индолицидина на регенерацию кожи при локальной холодовой травме // Науч. вед. Белгор. гос. ун-та. Сер.: Медицина. Фармация. 2015. Вып. 29, № 4(201). С. 77–84.
3. Mohr W.J., Jenabzadeh K., Ahrenholz D.H. Cold Injury // Hand Clinics. 2009. Vol. 25, № 4. P. 481–496. DOI: [10.1016/j.hcl.2009.06.004](https://doi.org/10.1016/j.hcl.2009.06.004)
4. Мовчан К.Н., Коваленко А.В., Зиновьев Е.В., Шуткин А.В., Сидоренко В.А., Донсков В.В. Опыт проведения некрэктомии при глубоких отморожениях физическими способами воздействия на ткани // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. 2011. Т. 170, № 1. С. 36–40.
5. Жуков Д.Ю., Рыбалкин С.П., Миляев А.В., Осипова Е.Ю., Батыргазиева Д.Р., Русалиева Д.А., Басова О.Е., Стротова О.В. Экспериментальное изучение специфической активности препарата на основе мезенхимальных мультипотентных стволовых клеток человека на модели местного отморожения, находящегося в условиях гипоксии (модель Арктики) // Состояние и перспективы развития современной науки по направлению «Биотехнические системы и технологии»: сб. ст. II Всерос. науч.-техн. конф. Т. 2. Анапа: Воен. инновац. технополис «ЭРА», 2020. С. 119–127.
6. Чигунадзе А.Л., Артюшкова Е.Б., Мишустин В.Н., Горяинова Г.Н., Артюшкова Е.В., Гладченко М.П., Уханова И.Ю., Заугольникова Н.С. Оценка фармакологической эффективности применения серотонина адипината, опиоидного пептида DSLET и их комбинации при экспериментальном контактном отморожении на фоне активной хирургической тактики // Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». 2015. № 2. С. 89–95.
7. Алексеев Р.З., Томский М.И., Гольдерова А.С., Потапов А.Ф., Алексеев Ю.Р., Семенова С.В. Предупреждение развития некроза при отморожениях с оледенением тканей // Междунар. журн. приклад. и фундам. исследований. 2015. № 8-1. С. 35–41.
8. Сизоненко В.А., Шаповалов К.Г., Мироманов А.М., Сумин С.А. Атлас термических поражений. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 73 с.
9. Кардовский А.Г. Лечение пострадавших с тяжелой местной холодовой травмой в остром периоде // Вят. мед. вестн. 2021. № 1(69). С. 19–25. DOI: [10.24411/2220-7880-2021-10145](https://doi.org/10.24411/2220-7880-2021-10145)
10. Goertz O., Baerreiter S., Ring A., Jettkant B., Hirsch T., Daigeler A., Steinau H.U., Langer S. Determination of Microcirculatory Changes and Angiogenesis in a Model of Frostbite Injury *in vivo* // J. Surg. Res. 2011. Vol. 168, № 1. P. 155–161. DOI: [10.1016/j.jss.2009.07.012](https://doi.org/10.1016/j.jss.2009.07.012)
11. Sachs S. The Triaging and Treatment of Cold-Induced Injuries // Deutsches Ärzteblatt International. 2014. Vol. 112, № 44. P. 741–747. DOI: [10.3238/arztebl.2015.0741](https://doi.org/10.3238/arztebl.2015.0741)
12. Kadian A., Saini S., Khanna R. Frostbite: A Conundrum in High Altitudes // Current Topics on Military Medicine. London: IntechOpen, 2021. DOI: [10.5772/intechopen.96286](https://doi.org/10.5772/intechopen.96286)
13. Manson P.N., Anthenelli R.M., Im M.J., Bulkley G.B., Hoopes J.E. The Role of Oxygen-Free Radicals in Ischemic Tissue Injury in Island Skin Flaps // Ann. Surg. 1983. Vol. 198, № 1. P. 87–90. DOI: [10.1097/0000658-198307000-00017](https://doi.org/10.1097/0000658-198307000-00017)
14. Малюк Е.А., Целуйко С.С., Никишина Г.И., Красавина Н.П. Морфологические изменения кожи конечности крыс при местном воздействии низкой температуры на фоне применения дигидрохверцетина // IN SITU. 2015. № 4. С. 23–26.
15. Шаповалов К.Г., Сизоненко В.А., Бурдинский Е.Н. Изменения компонентов сосудистого тонуса и показателей микроциркуляции при отморожениях нижних конечностей // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. 2008. Т. 167, № 3. С. 67–68.
16. Смирнова Е.Н., Лоран Е.А., Шулькина С.Г., Подтаев С.Ю. Исследование функции эндотелия с помощью холодовой пробы у пациентов с метаболическим синдромом // Соврем. проблемы науки и образования. 2014. № 6. С. 1113.
17. Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Каплунова В.Ю., Зекцер В.Ю., Виноградова Н.Н., Ильгисонис И.С., Шакарьянц Г.А., Кожевникова М.В., Лишута А.С. Метаболический синдром: история развития, основные критерии диагностики // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. 2018. Т. 14, № 5. С. 757–764. DOI: [10.20996/1819-6446-2018-14-5-757-764](https://doi.org/10.20996/1819-6446-2018-14-5-757-764)

18. Eckel R.H., Alberti K.G.M.M., Grundy S.M., Zimmet P.Z. The Metabolic Syndrome // *Lancet*. 2010. Vol. 375, № 9710. P. 181–183. DOI: [10.1016/S0140-6736\(09\)61794-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61794-3)
19. Derkach K.V., Bondareva V.M., Chistyakova O.V., Berstein L.M., Shpakov A.O. The Effect of Long-Term Intranasal Serotonin Treatment on Metabolic Parameters and Hormonal Signaling in Rats with High-Fat Diet/Low-Dose Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetes // *Int. J. Endocrinol.* 2015. Art. № 245459. DOI: [10.1155/2015/245459](https://doi.org/10.1155/2015/245459)
20. Валентюкевич А.Л., Меламед В.Д., Прокопчик Н.И. Экспериментальное моделирование отморожений разной степени тяжести у лабораторных животных. Ч. 2. Морфологическая оценка эффективности устройства для моделирования контактных отморожений // *Журн. Гродн. гос. мед. ун-та*. 2021. Т. 19, № 1. С. 46–54. DOI: [10.25298/2221-8785-2021-19-1-46-54](https://doi.org/10.25298/2221-8785-2021-19-1-46-54)
21. Габбасов А.Р., Давыдович М.Г. Оценка степени лимфоцитарной инфильтрации щитовидной железы // *Мед. вестн. Башкортостана*. 2009. Т. 4, № 5. С. 22–25.

References

1. Gruzdeva O.S. Patologicheskaya anatomiya otmorozheniy [Pathological Anatomy of Frostbite]. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*, 2020, no. 4, pp. 137–144.
2. Lazarenko V.A., Lyashev Yu.D., Shevchenko N.I. Effekty sinteticheskogo analoga indolitsidina na regeneratsiyu kozhi pri lokal'noy kholodovoy travme [Effects of the Synthetic Analogue of Indolicidin on Regeneration of Skin at Local Cold Injury]. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Ser.: Meditsina. Farmatsiya*, 2015, iss. 29, no. 4, pp. 77–84.
3. Mohr W.J., Jenabzadeh K., Ahrenholz D.H. Cold Injury. *Hand Clinics*, 2009, vol. 25, no. 4, pp. 481–496. DOI: [10.1016/j.hcl.2009.06.004](https://doi.org/10.1016/j.hcl.2009.06.004)
4. Movchan K.N., Kovalenko A.V., Zinov'ev E.V., Shutkin A.V., Sidorenko V.A., Donskov V.V. Opyt provedeniya nekrektomii pri glubokikh otmorozheniyakh fizicheskimi sposobami vozdeystviya na tkani [Experience with Surgical Necrectomy for Deep Frostbites Using Physical Means to Influence the Tissue]. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova*, 2011, vol. 170, no. 1, pp. 36–40.
5. Zhukov D.Yu., Rybalkin S.P., Milyaev A.V., Osipova E.Yu., Batyrgazieva D.R., Rusalieva D.A., Basova O.E., Stromova O.V. Eksperimental'noe izuchenie spetsificheskoy aktivnosti preparata na osnove mezenkhimal'nykh mul'tipotentnykh stvolovykh kletok cheloveka na modeli mestnogo otmorozheniya, nakhodyashchikhsya v usloviyakh gipoksii (model' Arktiki) [Experimental Study into the Specific Activity of a Drug Based on Human Mesenchymal Multipotent Stem Cells on a Local Frostbite Model Under Hypoxia (Arctic Model)]. *Sostoyanie i perspektivy razvitiya sovremennoy nauki po napravleniyu "Biotekhnicheskie sistemy i tekhnologii"* [State of and Prospects for the Development of Modern Science in the Sphere of Biotechnical Systems and Technologies]. Anapa, 2020, pp. 119–127.
6. Chigunadze A.L., Artyushkova E.B., Mishustin V.N., Goryainova G.N., Artyushkova E.V., Gladchenko M.P., Ukhanova I.Yu., Zaugol'nikova N.S. Otsenka farmakologicheskoy effektivnosti primeneniya serotoninina adipinata, opioidnogo peptida DSLET i ikh kombinatsii pri eksperimental'nom kontaktnom otmorozhenii na fone aktivnoy khirurgicheskoy taktiki [Study of Influence of Serotonin Adipate, DSLET and Their Combined Administration Against the Background of Active Surgical Tactics in Experimental Contact Frostbite]. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorov'e"*, 2015, no. 2, pp. 89–95.
7. Alekseev R.Z., Tomskiy M.I., Gol'derova A.S., Potapov A.F., Alekseev Yu.R., Semenova S.V. Preduprezhdenie razvitiya nekroza pri otmorozheniyakh s oledeneniem tkaney [Preventing the Development of Necrosis in the Frostbite with Tissue Glaciation]. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*, 2015, no. 8-1, pp. 35–41.
8. Sizonenko V.A., Shapovalov K.G., Miromanov A.M., Sumin S.A. *Atlas termicheskikh porazheniy* [Atlas of Thermal Injuries]. Moscow, 2017. 73 p.
9. Kardovskiy A.G. Lechenie postradavshikh s tyazhelyoy mestnoy kholodovoy travmoy v ostrom periode [Treatment of Patients with Severe Localized Cold Injury in the Acute Period]. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*, 2021, no. 1, pp. 19–25. DOI: [10.24411/2220-7880-2021-10145](https://doi.org/10.24411/2220-7880-2021-10145)
10. Goertz O., Baerreiter S., Ring A., Jettkant B., Hirsch T., Daigeler A., Steinau H.U., Langer S. Determination of Microcirculatory Changes and Angiogenesis in a Model of Frostbite Injury *in vivo*. *J. Surg. Res.*, 2011, vol. 168, no. 1, pp. 155–161. DOI: [10.1016/j.jss.2009.07.012](https://doi.org/10.1016/j.jss.2009.07.012)

11. Sachs C., Lehnhardt M., Daigeler A., Goertz O. The Triaging and Treatment of Cold-Induced Injuries. *Dtsch. Arztebl. Int.*, 2014, vol. 112, no. 44, pp. 741–747. DOI: [10.3238/arztebl.2015.0741](https://doi.org/10.3238/arztebl.2015.0741)
12. Kadian A., Saini S., Khanna R. Frostbite: A Conundrum in High Altitudes. Gorbunov N. (ed.). *Current Topics on Military Medicine*. London, 2021. DOI: [10.5772/intechopen.96286](https://doi.org/10.5772/intechopen.96286)
13. Manson P.N., Anthenelli R.M., Im M.J., Bulkley G.B., Hoopes J.E. The Role of Oxygen-Free Radicals in Ischemic Tissue Injury in Island Skin Flaps. *Ann. Surg.*, 1983, vol. 198, no. 1, pp. 87–90. DOI: [10.1097/0000658-198307000-00017](https://doi.org/10.1097/0000658-198307000-00017)
14. Malyuk E.A., Tseluyko S.S., Nikishina G.I., Krasavina N.P. Morfologicheskie izmeneniya kozhi konechnosti krysa pri mestnom vozdeystvii nizkoy temperatury na fone primeneniya digidrokvertsetina [Morphological Changes in the Skin of Rat Limbs Under Local Exposure to Low Temperature at the Administration of Dihydroquercetin]. *IN SITU*, 2015, no. 4, pp. 23–26.
15. Shapovalov K.G., Sizonenko V.A., Burdinskiy E.N. Izmeneniya komponentov sosudistogo tonusa i pokazatelye mikrotsirkulyatsii pri otmorozheniyakh nizhnikh konechnostey [Changes in Components of the Vascular Tone and Microcirculation Indices in Frostbites of Lower Extremities]. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova*, 2008, vol. 167, no. 3, pp. 67–68.
16. Smirnova E.N., Loran E.A., Shul'kina S.G., Podtaev S.Yu. Issledovanie funktsii endoteliya s pomoshch'yu kholodovoy proby u patsientov s metabolicheskim sindromom [Investigation of the Endothelium Function by the Cold Test in Patients with the Metabolic Syndrome]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*, 2014, no. 6, p. 1113.
17. Belenkov Yu.N., Privalova E.V., Kaplunova V.Y., Zektser V.Y., Vinogradova N.N., Ilgisonis I.S., Shakaryants G.A., Kozhevnikova M.V., Lishuta A.S. Metabolic Syndrome: Development of the Issue, Main Diagnostic Criteria. *Ration. Pharmacother. Cardiol.*, 2018, vol. 14, no. 5, pp. 757–764 (in Russ.). DOI: [10.20996/1819-6446-2018-14-5-757-764](https://doi.org/10.20996/1819-6446-2018-14-5-757-764)
18. Eckel R.H., Alberti K.G.M.M., Grundy S.M., Zimmet P.Z. The Metabolic Syndrome. *Lancet*, 2010, vol. 375, no. 9710, pp. 181–183. DOI: [10.1016/S0140-6736\(09\)61794-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61794-3)
19. Derkach K.V., Bondareva V.M., Chistyakova O.V., Berstein L.M., Shpakov A.O. The Effect of Long-Term Intranasal Serotonin Treatment on Metabolic Parameters and Hormonal Signaling in Rats with High-Fat Diet/Low-Dose Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetes. *Int. J. Endocrinol.*, 2015, vol. 2015, Art. no. 245459. DOI: [10.1155/2015/245459](https://doi.org/10.1155/2015/245459)
20. Valentyukevich A.L., Melamed V.D., Prokopchik N.I. Experimental Modeling of Frostbites of Varying Severity in Laboratory Animals. Part 2. Morphological Assessment of Device Effectiveness for Simulating Contact Frostbite. *J. Grodno State Med. Univ.*, 2021, vol. 19, no. 1, pp. 46–54. DOI: [10.25298/2221-8785-2021-19-1-46-54](https://doi.org/10.25298/2221-8785-2021-19-1-46-54)
21. Gabbasov A.R., Davydovich M.G. Otsenka stepeni limfotsitarnoy infil'tratsii shchitovidnoy zhelezy [Assessment of Lymphocyte Infiltration in Thyroid Gland]. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*, 2009, vol. 4, no. 5, pp. 22–25.

DOI: 10.37482/2687-1491-Z094

Nikita A. Shutskiy*/** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0979-1569>
Sergey L. Kashutin* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2687-3059>
Leonid L. Shagrov*/** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2655-9649>
Svetlana I. Malyavskaya* ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2521-0824>
Nikita S. Kholopov*/** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5604-5257>

*Northern State Medical University
(Arkhangelsk, Russian Federation)

**Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov
(Arkhangelsk, Russian Federation)

CELL CONTENT IN RAT DERMAL ZONES IN HEALTH AND AT METABOLIC SYNDROME DURING RECOVERY FROM COLD INJURY

Local cold injury is not uncommon in areas with unfavourable climatic conditions. The significance of this problem is associated with a large number of such injuries, complexity of their treatment, long period of disability and high level of disablement among the population. Aggravating factors of cold

injuries include metabolic abnormalities that can lead to the development of cardiovascular diseases, and, consequently, to microcirculation disorders. The **aim** of this paper was to trace the dynamics of the cellular structures of the dermis in the process of recovery from local cold injury in rats with metabolic syndrome, compared with the recovery process in healthy rats. **Materials and methods.** The study was conducted on outbred rats. The development of obesity and metabolic disorders was modelled by including a 30 % sucrose solution in the diet instead of water, as well as saturated fats. Local cold injury was modelled by applying a metal weight 2.5 cm in diameter cooled in liquid nitrogen to the depilated skin of the animals' backs. Cell dynamics was studied in the papillary and reticular dermis as well as in the reticular dermis on the border with the hypoderm of the damaged area and on its periphery using a morphometric grid. **Results.** The data obtained suggest that regenerative changes after local cold injury in rats are associated with accumulation of cells on the border of the reticular dermis and the hypoderm of the damaged area. In addition, we observed a later onset of the peak of the migration process and a larger number of cells involved in migration at metabolic syndrome than during regeneration of the wound surface in the absence of metabolic disorder. It is quite likely that all the dermal zones under study, especially the dermis on the border with the hypoderm, are involved in the regeneration process of the affected area, whereas on the periphery of the damaged area, it is mainly the dermal zone located on the border of the reticular dermis and the hypoderm that is involved.

Keywords: *dermal zones, dermal cells, local cold injury, recovery period, metabolic syndrome.*

Поступила 08.12.2021
Принята 12.04.2022
Received 8 December 2021
Accepted 12 April 2022

Corresponding author: Nikita Shutskiy, *address:* prosp. Troitskiy 51, Arkhangelsk, 163001, Russian Federation;
e-mail: nikitashutskijj@rambler.ru

For citation: Shutskiy N.A., Kashutin S.L., Shagrov L.L., Malyavskaya S.I., Kholopov N.S. Cell Content in Rat Dermal Zones in Health and at Metabolic Syndrome During Recovery from Cold Injury. *Journal of Medical and Biological Research*, 2022, vol. 10, no. 2, pp. 87–99. DOI: 10.37482/2687-1491-Z094