

# ДИАГНОСТИКА НАРУШЕНИЙ КРОВООБРАЩЕНИЯ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ОЖОГЕ КОЖИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ АНГИОГРАФИИ И ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

DOI: 10.17691/stm2024.16.2.05

УДК 616.345–005–073.756.8+616.5–001.17

Поступила 14.01.2024 г.

- © **М.Г. Рябков**, д.м.н., доцент, главный научный сотрудник лаборатории оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>;  
**П.В. Перетягин**, младший научный сотрудник отдела физико-химических исследований Центральной научно-исследовательской лаборатории<sup>1</sup>;  
**С.А. Шестакова**, студент<sup>2</sup>;  
**С.С. Птушко**, студент<sup>1</sup>;  
**М.С. Кошманев**, ординатор<sup>1</sup>;  
**Е.Л. Бедерина**, врач-патологоанатом, младший научный сотрудник Университетской клиники<sup>1</sup>;  
**А.Л. Потапов**, аспирант, лаборант лаборатории оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>;  
**М.А. Сироткина**, к.б.н., директор НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>;  
**Н.Д. Гладкова**, д.м.н., профессор, зав. лабораторией оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>;  
**Е.Б. Киселева**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005;

<sup>2</sup>Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, проспект Гагарина, 23, Н. Новгород, 603950

Состояние пищеварительного тракта во многом определяет возможности восстановления и риск развития осложнений у пациентов с обширными ожогами кожи. Однако механизмы развития сосудистой дисфункции в толстой кишке у обожженных изучены слабо.

**Цель исследования** — изучить нарушения интрамурального кровообращения толстой кишки с применением технологий оптической когерентной ангиографии (ОКА) и лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) в разные сроки после моделирования термического ожога.

**Материалы и методы.** Крысам линии Wistar ( $n=15$ ) моделировали глубокий термический ожог кожи на 10% площади поверхности тела. В течение 15 мин до ожога и спустя 45 мин проводили непрерывный мониторинг кровообращения в стенке толстой кишки с помощью ОКА и ЛДФ. На 7-е и 14-е сутки после термического ожога стенку кишки вновь исследовали с помощью ОКА и ЛДФ. На каждом этапе (45 мин, 7-е и 14-е сутки) из эксперимента выводили по 5 животных, кишечную стенку забирали для гистологического исследования. У трех контрольных крыс проводили гистологическое исследование образцов стенки толстой кишки без нанесения термического ожога кожи.

**Результаты.** В течение 45 мин после нанесения термического ожога методами ОКА и ЛДФ *in vivo* зафиксированы изменения интрамурального кровообращения в виде выпадения части артериол и капилляров из общего кровотока на фоне активизации работы сосудистых шунтов как компенсаторного механизма. Гистологически в этот период наблюдались выраженный отек подслизистой основы, агрегация эритроцитов и стаз в капиллярной сети. К 7-м суткам после ожога, по данным ОКА и ЛДФ, нарушения микроциркуляции толстой кишки частично купируются, и к 14-м суткам анализируемые показатели возвращаются к исходному уровню. По данным гистологического исследования, на 7-е сутки после нанесения ожога отек подслизистой оболочки отсутствовал, однако признаки нарушения микроциркуляции и воспалительных изменений сохранялись. На 14-е сутки патологических изменений в тканях не наблюдалось.

**Заключение.** С использованием методов ОКА и ЛДФ экспериментально установлено, что уже в течение первых 45 мин термический ожог вызывает значительные нарушения кровотока в стенке толстой кишки, которые в условиях отсутствия терапии приходят в норму к 14-м суткам. Полученные данные о механизме развития нарушений кровообращения в толстой кишке могут стать основой для выбора терапии, направленной на предупреждение кишечной дисфункции у обожженных.

**Для контактов:** Рябков Максим Георгиевич, e-mail: maxim-ryabkov@yandex.ru

**Ключевые слова:** ожог кожи; толстая кишка; микроциркуляция; неокклюзионная ишемия; оптическая когерентная ангиография; лазерная доплеровская флоуметрия.

**Как цитировать:** Ryabkov M.G., Peretyagin P.V., Shestakova S.A., Ptushko S.S., Koshmanev M.S., Bederina Y.L., Potapov A.L., Sirotkina M.A., Gladkova N.D., Kiseleva E.B. Diagnosis of skin burn-induced colon circulatory disorders using optical coherence tomography angiography and laser Doppler flowmetry (experimental study). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2024; 16(2): 47, <https://doi.org/10.17691/stm2024.16.2.05>

## English

## Diagnosis of Skin Burn-Induced Colon Circulatory Disorders Using Optical Coherence Tomography Angiography and Laser Doppler Flowmetry (Experimental Study)

**M.G. Ryabkov**, MD, DSc, Associate Professor, Chief Researcher, Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>;  
**P.V. Peretyagin**, Junior Researcher, Department of Physico-Chemical Researches, Central Research Laboratory<sup>1</sup>;  
**S.A. Shestakova**, Student<sup>2</sup>;  
**S.S. Ptushko**, Student<sup>1</sup>;  
**M.S. Koshmanev**, Medical Resident<sup>1</sup>;  
**Y.L. Bederina**, Pathologist, Junior Researcher, University Clinic<sup>1</sup>;  
**A.L. Potapov**, PhD Student, Laboratory Technician, Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>;  
**M.A. Sirotkina**, PhD, Director of the Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>;  
**N.D. Gladkova**, MD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>;  
**E.B. Kiseleva**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

<sup>2</sup>National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russia

The condition of gastrointestinal tract determines in many respects the regenerative capacity and the risk of complications in patients with extensive skin burns. However, the mechanism of developing vascular dysfunction in the colon in the burned individuals has so far been poorly studied.

**The aim of the investigation** is to study intramural circulatory disorders of the colon using optical coherence tomography angiography (OCTA) and laser Doppler flowmetry (LDF) in different time periods after modeling a thermal burn.

**Materials and Methods.** A deep thermal skin burn was induced on the area covering 10% of the body surface of Wistar rats (n=15). The blood flow of the colon wall was continuously monitored for 15 min before and 45 min after the burn using OCTA and LDF. The colon wall was again studied on days 7 and 14 using the same OCTA and LDF techniques. At each time point (45 min, day 7 and 14), 5 animals were withdrawn from the experiment, the colon wall was taken for histological study. The colon wall samples from three control rats without thermal skin burns were also histologically investigated.

**Results.** During 45 min after the induction of the thermal burn, the *in vivo* OCTA and LDF techniques registered changes in intramural blood flow in the form of dropping of some arterioles and capillaries out of the general blood flow with concurrent activation of vascular shunts as a compensatory mechanism. Histologically, a marked edema of the submucosa, erythrocyte aggregation, and stasis in the capillary network were observed in this period. According to the OCTA and LDF data, the microcirculatory disorders in the colon were partially resolved by day 7, and by day 14 the analyzed indicators returned to the initial level. The data of the histological evaluation have shown that on day 7 after the burn induction, submucosal edema was absent, however, the signs of microcirculatory disorder and inflammatory changes remained. On day 14, the pathological changes in the tissues were not observed.

**Conclusion.** The OCTA and LDF methods allowed us to establish experimentally that during the first 45 min thermal burn causes considerable disturbances of the blood flow in the colon wall, which normalizes only by day 14 if no therapy is administered. The obtained data on the mechanism of circulatory disorder development in the colon may become a basis for choosing therapy directed to prevention of intestine dysfunction in people with burns.

**Key words:** skin burn; colon; microcirculation; non-occlusive ischemia; optic coherence tomography angiography; laser Doppler flowmetry.

## Введение

Острая ожоговая травма кожи вызывает повреждение ряда органов и систем, анатомически отдаленных от покровных тканей. Одна из таких систем — мишеней, повреждение которой значительно ухудшает прогноз пациента с термическими ожогами — желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) [1]. От функциональной активности пищеварительного тракта на всех стадиях ожоговой болезни зависят время и качество заживления ожоговых ран [2]. При этом среди пациентов с обширными термическими ожогами частота дисфункции ЖКТ достигает 40–45% [3]. В проксимальных отделах пищеварительного тракта ожог кожи сопровождается стимуляцией желудочной секреции, изъязвлением слизистой оболочки желудка и 12-перстной кишки, подавлением перистальтики и всасывания в тонкой кишке [4]. Из клинических наблюдений известно, что дисфункция дистального отдела ЖКТ у пациентов с ожогами проявляется острой псевдообструкцией толстой кишки, сепсисом и абдоминальным компартмент-синдромом, увеличением проницаемости слизистой оболочки толстой кишки и транслокацией бактерий [1]. Поздняя диагностика, отсутствие объективных данных о состоянии кишечной стенки приводят к необходимости экстренных оперативных вмешательств [5]. Более чем у 80% умерших пациентов с обширными ожогами кожи в клинической картине отмечают дисфункцию ЖКТ: диарею, запор или тошноту/рвоту, острые гастродуоденальные язвы и кровотечения [6].

Важнейший анатомический отдел пищеварительного тракта, определяющий риск развития тяжелых осложнений у ожоговых больных, — толстая кишка. Течение острой псевдообструкции толстой кишки (в отечественной терминологии — динамической кишечной непроходимости) у ожоговых больных — агрессивное и прогностически существенно более неблагоприятное, чем у пациентов других нозологических групп [5]. Функциональное состояние толстой кишки, наличие динамической непроходимости или диареи сильно коррелируют с риском развития сепсиса у обожженных [7].

Несмотря на важную роль сохранения функций толстой кишки в течении ожоговой болезни, о природе нарушений структуры и интрамурального кровообращения данного органа у обожженных известно немного. Имеющиеся данные о роли мезентериальной ишемии в патогенезе ожоговой болезни преимущественно касаются тонкой кишки: частота неокклюзионной острой мезентериальной ишемии (НОМИ) в бассейне верхней брыжеечной артерии у обожженных составляет 1–2%, причем риск развития этого осложнения растет вместе с увеличением площади термического повреждения. Летальность у обожженных с острой мезентериальной ишемией (90 сут) вдвое превышает уровень летальности у пациентов без таковой при равных показателях площади и глубины ожоговой травмы [3]. Известно, что триггером НОМИ тонкой кишки ста-

новятся рефрактерная гиповолемия и снижение сердечного выброса, которые наиболее характерны для пациентов в состоянии шока — ожогового или септического [8]. Однако сведений о состоянии кровообращения в стенке толстой кишки у пациентов с ожогами кожи существенно меньше. Остаются также малоизученными особенности патогенеза ишемии кишечника при ограниченных по площади термических ожогах кожи. Новые знания в этой области важны для выбора срока и состава целенаправленной терапии, профилактики сосудистых нарушений в кишечнике у большой группы обожженных.

Одной из технических проблем, сдерживающих изучение вопроса о природе патологических изменений стенки толстой кишки у обожженных, является отсутствие диагностических технологий для длительного мониторинга кровообращения и структуры кишечной стенки. Адаптация оптической когерентной ангиографии (ОКА) к условиям применения в брюшной полости на перистальтирующей кишке *in vivo* [9] позволяет существенно продвинуться в решении этой проблемы. Ранее ОКА уже использовалась для визуализации микрососудистого русла различных отделов пищеварительного тракта: пищевода [10, 11], желудка [12, 13], тонкой кишки [14, 15], для исследования экспериментально моделированной патологии и в практической диагностической деятельности, однако для диагностики состояния толстой кишки на экспериментальной модели ожоговой травмы кожи данный метод не применялся.

Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) — один из немногих методов диагностики кровообращения в стенке кишки, включенных в российские клинические рекомендации [16]. Диагностические возможности технологии ЛДФ позволяют верифицировать параметры кровотока в ткани *in vivo* в режиме реального времени и определять основные патогенетические механизмы дисциркуляторных нарушений в стенке пищеварительного тракта [17]. ЛДФ достаточно широко применяется для исследования механизмов нарушения кровообращения, в частности при воспалительных заболеваниях кишечника [18], интестинальной ишемии [19, 20].

Комплексное применение ОКА и ЛДФ в мониторинге кровообращения в кишечной стенке позволяет оценить функциональные показатели микроциркуляции, а также количество и морфологические параметры функционирующих интрамуральных сосудов в каждый момент времени, получить новые знания о патогенетических механизмах нарушений кровообращения в кишечнике при термическом ожоге кожи. Учитывая изменчивость архитектуры сосудистой сети кишечной стенки и «тонкий» характер возможных изменений в висцеральном кровообращении при термической травме кожи, для объективной картины целесообразно получать данные ОКА и ЛДФ одновременно из одной и той же зоны кишечной стенки. Ранее это было невозможно из-за большого количества артефактов движения и трудности фиксации торцевой части

ОКА-зонда к кишечной стенке. Однако разработанное нами устройство для вакуумной фиксации ОКА-зонда к поверхности исследуемой ткани обеспечило получение серий качественных ОКА-изображений из одной исследуемой точки в динамике [9]. Таким образом, решение клинически и фундаментально значимой задачи — изучения реакции микроциркуляторного русла толстой кишки на наличие обширного термического ожога у пациентов — в настоящее время стало технически и методологически возможным.

**Цель исследования** — изучить нарушения интрамурального кровообращения толстой кишки с применением технологий оптической когерентной ангиографии и лазерной доплеровской флоуметрии в разные сроки после моделирования термического ожога.

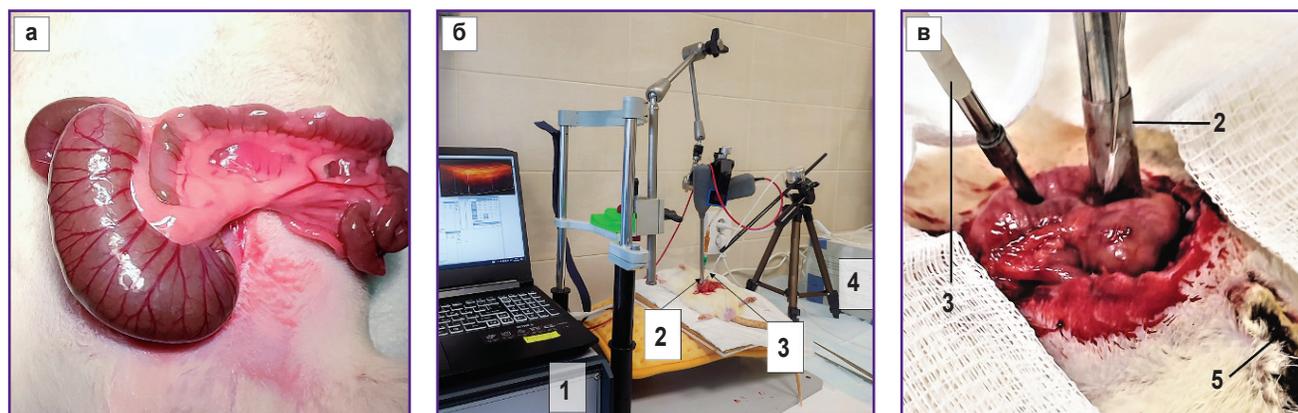
### Материалы и методы

Экспериментальное исследование выполнено в Научно-исследовательском институте экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий Приволжского исследовательского медицинского университета (Н. Новгород). Исследование одобрено Этическим комитетом Приволжского исследовательского медицинского университета (протокол №12 от 05.08.2022). Использованы крысы-самцы линии Wistar с массой тела от 150 до 215 г (n=18, из них 15 животных — в группе термического ожога и 3 — в контрольной группе). Содержание животных в виварии и исследовательская работа соответствовали международным правилам «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» и отвечали требованиям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Хирургические вмешательства проводили под общим обезболиванием смесью растворов 0,2 мл 3,5% тилетамина гидрохло-

рида + золазепам гидрохлорида и 0,1 мл 2% ксилазина гидрохлорида внутривенно.

В асептических условиях экспериментальной операционной после введения животного в наркоз проводили средне-срединную лапаротомию. В лапаротомную рану выводили участок толстой кишки (рис. 1, а), располагали ОКА-зонд оптического когерентного томографа и ЛДФ-датчик прибора «ЛАЗМА СТ» (НПП «ЛАЗМА», Россия) на поверхности толстой кишки со стороны серозной оболочки на расстоянии 3–4 мм друг от друга (рис. 1, б) и в течение 15 мин осуществляли мониторинг кровообращения. Таким образом была получена непрерывная серия ОКА- и ЛДФ-данных о состоянии микроциркуляторного русла в соседних точках выбранной зоны кишки до нанесения ожоговой раны. Затем моделировали глубокий термический ожог кожи левой половины брюшной стенки на площади 10% поверхности тела животного. Площадь ожога в экспериментальной модели определяли исходя из задачи воспроизвести клиническую картину у максимально широкой группы пострадавших с термическими ожогами и минимизировать при этом вероятность генерализованных гемодинамических нарушений, характерных для ожогового шока.

В процессе нанесения термического ожога и в течение последующих 45 мин продолжали осуществлять ОКА- и ЛДФ-мониторинг кровообращения кишечной стенки. После этого у пяти животных забирали изученные образцы тканей на гистологическое исследование, у 10 животных лапаротомную рану ушивали. Животных оставляли жить в стандартных условиях вивария, терапию ожоговой травмы не проводили. На 7-е сутки после первичного вмешательства у половины животных (5 из 10) и на 14-е сутки — у оставшихся пяти животных под наркозом проводили релапаротомию и вновь получали данные ОКА и ЛДФ о кровообращении стенки толстой кишки в исследован-



**Рис. 1. Этапы эксперимента:**

а — 1-е сутки: исследуемый участок толстой кишки выведен в лапаротомную рану; б — 1-е сутки: получение данных ОКА и ЛДФ до нанесения ожоговой раны; в — 7-е сутки: релапаротомия, получение данных ОКА и ЛДФ. 1 — оптический когерентный томограф с функцией ангиографии; 2 — ОКА-зонд находится в контакте с поверхностью толстой кишки; 3 — датчик прибора «ЛАЗМА СТ» находится в контакте с поверхностью толстой кишки; 4 — прибор «ЛАЗМА СТ» для получения ЛДФ-данных; 5 — участок термического ожога кожи на левой боковой поверхности брюшной стенки

ной ранее зоне в течение 45 мин (рис. 1, в). Зона интереса стандартно находилась на передней поверхности проксимального отдела толстой кишки в 1,5 см от илеоцекального перехода, поэтому легко определялась на следующем этапе исследования. По завершении диагностической процедуры участок толстой кишки забирали для гистологического исследования. Животных выводили из эксперимента передозировкой миорелаксанта. У трех контрольных крыс брали образцы стенки толстой кишки для гистологического исследования без нанесения ожоговой раны кожи.

Мониторинг состояния микрососудистого русла кишечной стенки выполняли с использованием методов ОКА и ЛДФ. Метод ОКА, примененный для мониторинга состояния интрамуральных сосудов толстой кишки путем их визуализации до и в разные сроки после нанесения ожоговой раны, реализован с помощью спектрального мультимодального оптического когерентного томографа (Федеральный исследовательский центр «Институт прикладной физики РАН», Н. Новгород). Технические характеристики томографа: длина волны зондирующего излучения — 1310 нм, продольное разрешение — 10 мкм, разрешение по глубине — 15 мкм, глубина сканирования — 1,7 мм, скорость сканирования — 20 000 А-сканов в секунду. Зонд с внешним диаметром 10 мм устанавливали контактно на боковой поверхности кишки и удерживали неподвижно в течение 26 с для записи одного ОКТ-изображения. Непрерывное 2D-сканирование выполняли вдоль быстрой оси (512 спектральных измерений, 256 спектральных А-сканов) и вдоль медленной оси (1024 В-скана), данные объединяли в 3D-изображение объемом 4×4×2 мм (длина×ширина×высота). Построение двухмерных *en-face* изображений сосудистых сеток происходило в процессе получения ОКТ-данных путем автоматической высокочастотной фильтрации ОКТ-сигнала: подвижные рассеиватели (движущиеся в кровеносных сосудах эритроциты) выделялись на фоне неподвижных рассеивателей (окружающей кровеносные сосуды ткани).

При анализе ОКА-изображений проводили их визуальную и количественную оценку. Количественный анализ заключался в расчете общей длины всех сосудов ( $L$ , мкм), а также доли сосудов диаметром  $\leq 15$  мкм ( $L_1$ ), диаметром 16–60 мкм ( $L_2$ ), диаметром 61 — 100 мкм ( $L_3$ ) и диаметром более 100 мкм ( $L_4$ ) от общей длины сосудистого русла. Расчеты выполняли в оригинальной программе, написанной в математической среде Anaconda 4.3.1 (Python v. 3.6).

Лазерную доплеровскую флоуметрию проводили с помощью лазерного диагностического аппарата «ЛАЗМА СТ» (НПП «ЛАЗМА», Россия). Датчик аппарата устанавливали на серозную оболочку кишки на расстоянии 3–4 мм от ОКТ-зонда. При анализе данных ЛДФ (объем сканирования — 1,5 мм<sup>3</sup>) рассчитывали ПМ — показатель микроциркуляции (перфузии), т.е. средний объем крови в заданном интервале време-

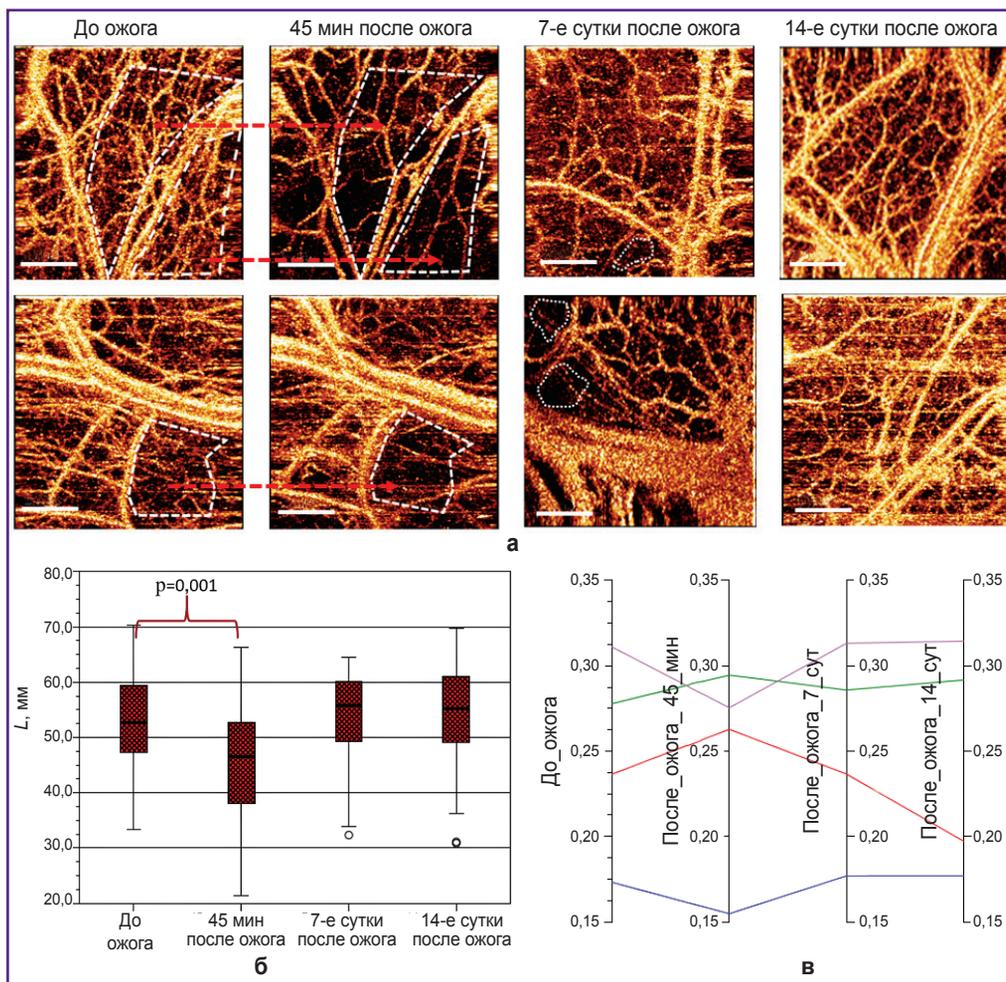
ни, измеряемый в перфузионных единицах (пф. ед.); ПШ — показатель шунтирования, т.е. соотношение амплитуд нейрогенных и миогенных колебаний сосудистой стенки, измеряемое в условных единицах (усл. ед.).

Для выполнения гистологического исследования на каждом этапе (45 мин, 7-е и 14-е сутки) из эксперимента выводили по 5 животных; участки кишечной стенки, изученные с помощью ОКА и ЛДФ, забирали для гистологического исследования, нанеся метки гистологической тушью. Образцы тканей фиксировали в 10% формалине. После фиксации образцы отправляли в стандартную гистологическую проводку на аппарате Excelsior ES (Thermo Scientific, США). Затем осуществляли ориентацию тканей в соответствии с областями ОКТ- и ЛДФ-сканирования и последующую заливку в парафиновые блоки с использованием заливочной станции HistoStar (Thermo Scientific, США). Серийные срезы толщиной 3–4 мкм получали на микротоме Microm HM 325 (Thermo Scientific, США). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином при помощи станции для окраски Gemini AS (Thermo Scientific, США). Для морфометрической обработки и создания фотоархива полученного материала использовали микроскоп Leica 2500 (Leica Microsystems, Германия) и сканирующий комплекс 3DHISTECH PANNORAMIC Midi (Carl Zeiss, Германия) в режиме светлого поля в диапазоне увеличения 50–400 с использованием системы автоматизированного анализа изображений.

**Статистическая обработка данных.** Для статистической обработки данных использовали программу IBM SPSS Statistics v. 20. Оценку статистической значимости различий при сравнении групп по количественному признаку проводили по критериям Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса. Выборочные параметры обозначали: Me — медиана, Q1 — верхний квартиль, Q3 — нижний квартиль,  $n$  — объем анализируемой подгруппы,  $p$  — величина статистической значимости различий,  $p_{adjusted}$  — скорректированная величина статистической значимости различий с поправкой Бонферрони при множественном сравнении. Критическое значение уровня значимости принимали равным 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## Результаты

**Результаты ОКА-мониторинга интрамуральной микроциркуляции толстой кишки при термическом ожоге.** Для каждого этапа эксперимента наблюдаются характерные ОКА-изображения (рис. 2, а). До термического ожога на ОКА-изображениях визуализируется густая сеть кровеносных сосудов разного диаметра, равномерно заполняющих все изображение. Сразу же после нанесения термической травмы начинаются выраженные изменения в микрососудистом русле толстой кишки. Типичный паттерн реакции интрамуральной сосудистой сети на ожог, выявленный во всех ОКА-наблюдениях, — исчезновение части кровеносных сосудов малого калибра (диаметром менее



**Рис. 2. Изменения микроциркуляции толстой кишки в разные сроки после моделирования термического ожога кожи, полученные с помощью ОКА:**

**а** — динамика изменений сосудистой сети на ОКА-изображениях в разные сроки после нанесения термического ожога по сравнению с визуализацией кровеносных сосудов до ожога. Через 45 мин на ОКА-изображениях появляются бессосудистые зоны (отмечены белой пунктирной границей), на 7-е и 14-е сутки происходит восстановление ангиографической картины; красными стрелками обозначены участки ОКА-изображений с характерными изменениями сосудистого рисунка до и после ожога; бар — 1 мм;

**б** — динамика медианных значений суммарной длины кровеносных сосудов до ожога, через 45 мин, на 7-е и 14-е сутки после нанесения термического ожога кожи;

**в** — динамика доли кровеносных сосудов определенного диаметра в общей функционирующей сосудистой сети: синяя линия —  $L1$  ( $d \leq 15$  мкм); фиолетовая —  $L2$  ( $d=16-60$  мкм); зеленая —  $L3$  ( $d=60-100$  мкм); красная —  $L4$  ( $d > 100$  мкм)

60 мкм, что соответствует капиллярам, артериолам и венулам) и появление бедных сосудами или бессосудистых зон при сохранении визуализации крупных парных кровеносных сосудов (артерий и вен). Количественный анализ ОКА-изображений показал, что медиана общей длины сосудов до ожога составляет 52,77 [47,19; 59,62] мм; в течение 45 мин наблюдения после ожога этот показатель сократился до 46,59 [37,27; 53,12] мм ( $p_{\text{adjusted}}=0,001$ ) (рис. 2, б).

На 7-е сутки после ожога при визуальном анализе ОКА-изображений кишечной стенки фиксировались остаточные явления нарушений кровообращения: зоны с обедненным сосудистым рисунком присутствовали, но их площадь значительно сократилась.

Значение общей длины кровеносных сосудов в исследуемых участках толстой кишки составило 55,73 [48,08; 60,46] мм, что статистически значимо не отличается от исходного уровня ( $p_{\text{adjusted}}=1,000$ ).

К 14-м суткам после ожога значение общей длины кровеносных сосудов составило 55,32 [47,94; 62,82] мкм и также не отличалось от исходного ( $p_{\text{adjusted}}=1,000$ ), при этом визуально сосудистый рисунок у всех животных был схож с таковым перед нанесением ожоговой раны.

Количественный анализ изменений длины сосудов различного диаметра показал, что наибольший вклад в снижение длины сосудистого русла вносили сосуды диаметром менее 15 мкм ( $L1$ ) и диаметром 16–60 мкм

(L2): их доли сократились в течение первых 45 мин после ожога с 0,17 [0,15; 0,19] до 0,15 [0,14; 0,18] ( $p_{adjusted}=0,018$ ) и с 0,31 [0,28; 0,34] до 0,27 [0,26; 0,30] ( $p_{adjusted}=0,001$ ) соответственно (рис. 2, е). В последующие этапы наблюдения — на 7-е и на 14-е сутки — указанные показатели возвращались к исходным значениям.

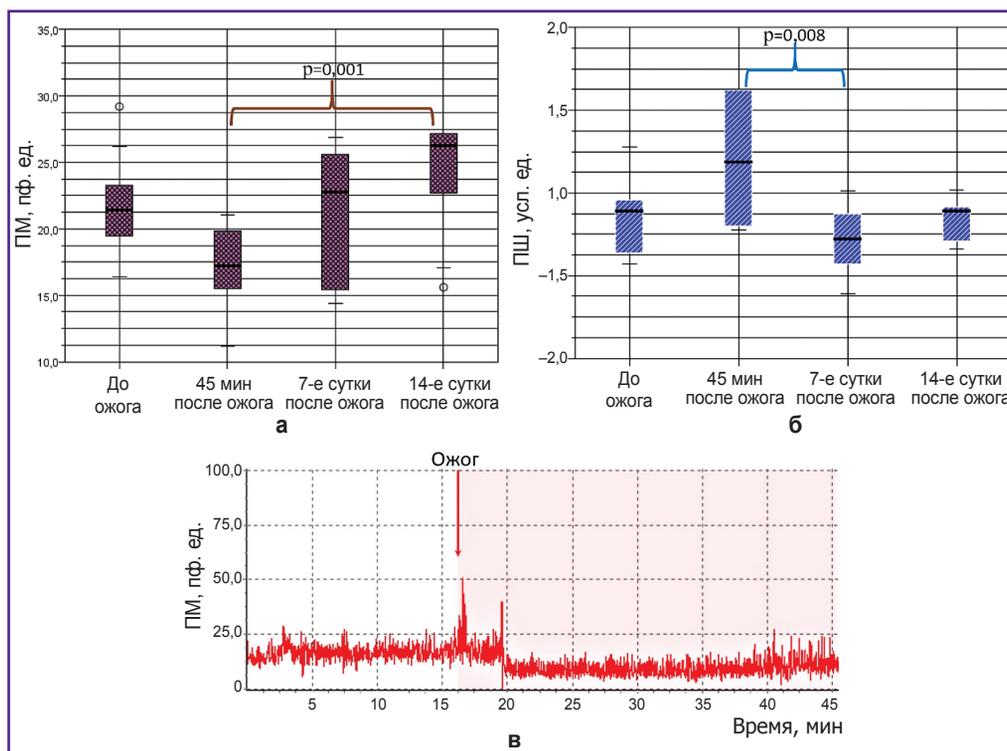
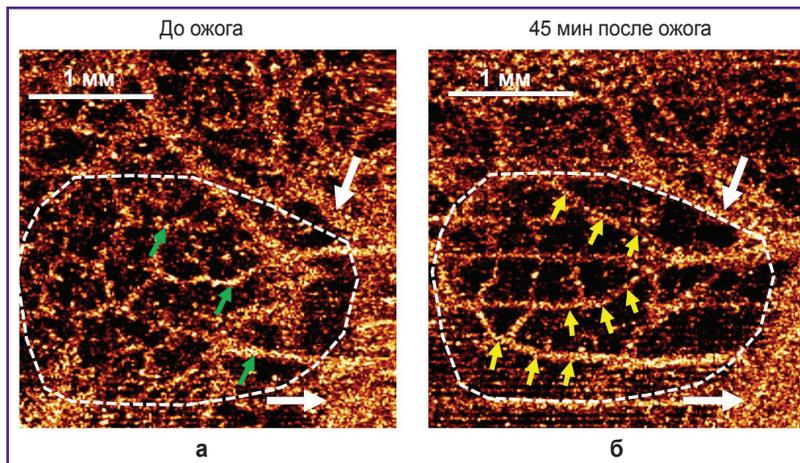
Необходимо отметить, что в течение 45 мин после нанесения термического ожога на ряде ОКА-изображений одновременно с исчезновением кровеносных сосудов малого калибра в данных зонах становятся более выраженными другие, «мостовид-

ные» сосуды-шунты диаметром 40–80 мкм, которые соединяют между собой некрупные артерии. На рис. 3 приведены ОКА-изображения, демонстрирующие активацию шунтирующих сосудов: после ожога их диаметр увеличился на фоне обеднения сосудистого рисунка (желтые стрелки).

Таким образом, ОКА-мониторинг стенки толстой кишки показал, что термический ожог кожи сопровождается острыми нарушениями интрамурального кровообращения, которые проявлялись образованием бессосудистых или обедненных сосудами зон на ОКА-изображениях, признаками активизации

**Рис. 3.** Пример исчезновения кровеносных сосудов малого калибра и одновременной активизации шунтирующих кровеносных сосудов на ОКА-изображениях стенки толстой кишки через 45 мин после нанесения термического ожога (область сравнения обозначена белым пунктиром):

а — до ожога, б — после нанесения ожога; белые стрелки — крупные сосуды, идентичные на обоих изображениях, визуализируются одинаково до и после ожога; зеленые стрелки — неактивные шунтирующие сосуды; желтые стрелки — активные шунтирующие сосуды



**Рис. 4.** Изменения микроциркуляции толстой кишки в разные сроки после моделирования термического ожога кожи, полученные методом лазерной доплеровской флоуметрии: а — динамика медианы показателя ПМ (пф. ед.); б — динамика показателя ПШ (усл. ед.); в — типичный пример изменений ЛДФ-граммы в момент нанесения термического ожога кожи

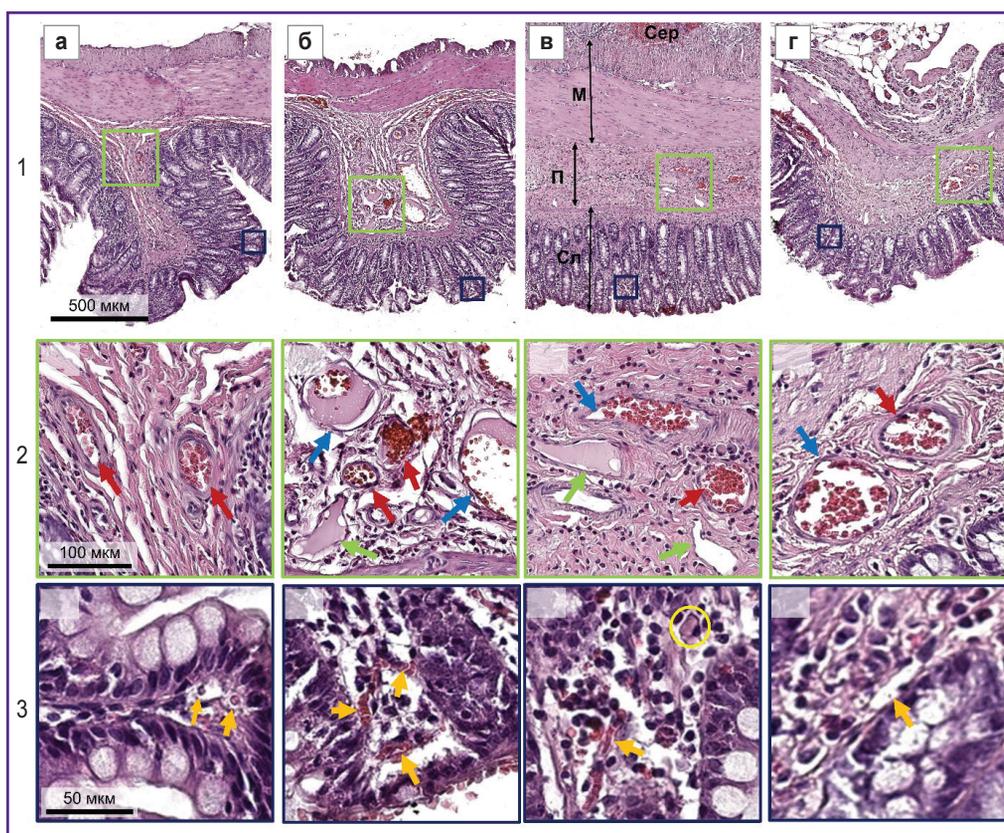
работы сосудистых шунтов. Сокращение общей длины сосудистого русла и формирование бессосудистых зон в кишечной стенке происходило за счет выключения из кровотока сосудов диаметром менее 60 мкм. Их доля в общей длине перфузируемого сосудистого русла сократилась на 13% ( $p=0,001$ ).

**Результаты ЛДФ-мониторинга интрамуральной микроциркуляции толстой кишки при термическом ожоге.** Интегральный ЛДФ-параметр — ПМ — статически значимо менялся на протяжении четырех этапов исследования (критерий Краскела–Уоллиса,  $p=0,001$ ). Сразу после лапаротомии до

нанесения термического ожога в интактной стенке толстой кишки значение ПМ составляло 21,4 [19,3; 23,3] пф. ед., а после нанесения термического ожога кожи оно снизилось до 17,3 [15,1; 19,9] пф. ед. и составило в течение первых 45 мин около 80% от исходного уровня (рис. 4, а). К 7-м суткам наблюдения ПМ стабилизировался и составил 22,8 [15,3; 25,7] пф. ед.; к 14-м суткам эксперимента он превышал исходный уровень и составлял 26,3 [22,6; 27,2] пф. ед. При множественном межгрупповом сравнении значений ПМ до ожога и через 45 мин после ожога  $p_{adjusted}$  составил 0,096; до ожога и на 7-е сутки после ожога — 1,000; до ожога и

**Динамика исследуемых параметров микроциркуляции в стенке толстой кишки по данным лазерной доплеровской флоуметрии, Me [Q1; Q3]**

Параметры	До ожога	После ожога		
		45 мин	7-е сутки	14-е сутки
Показатель микроциркуляции	21,4 [19,3; 23,3]	17,3 [15,1; 19,9]	22,8 [15,3; 25,7]	26,3 [22,6; 27,2]
Показатель шунтирования	0,899 [0,569; 1,026]	1,185 [0,803; 1,622]	0,723 [0,532; 0,875]	0,893 [0,698; 0,939]



**Рис. 5. Гистологические изображения стенки толстой кишки до нанесения ожога (а), через 45 мин (б), на 7-е (в) и на 14-е сутки (г) после нанесения термической травмы:**

1 — обзорные изображения, стенка толстой кишки состоит из четырех слоев: тонкой серозной оболочки (Сер), двухслойной мышечной оболочки (М), подслизистой основы (П) и слизистой оболочки (Сл); складки толстой кишки образованы слизистой оболочкой и подслизистой основой (а1, б1);

2 — увеличенные изображения подслизистой основы с сосудами; красные стрелки — артериолы, голубые стрелки — вены, зеленые стрелки — лимфатические сосуды;

3 — увеличенные изображения слизистой оболочки и собственной пластинки слизистой; оранжевые стрелки указывают на капилляры, желтым кругом обозначен гиалиновый тромб в просвете капилляра

на 14-е сутки после ожога — 0,102; через 45 мин после ожога и на 14-е сутки после ожога — 0,001.

Изменение ПМ после ожога происходило на фоне динамических и разнонаправленных изменений показателя шунтирования (ПШ). В интактной кишке ПШ составлял 0,90 [0,57; 1,03] усл. ед., а в течение первых 45 мин после ожога он увеличивался до 1,19 [0,80; 1,62] усл. ед. (критерий Краскела–Уоллиса,  $p=0,012$ ) (рис. 4, б).

Указанные изменения фиксировались на ЛДФ-грамме и сохранялись в течение всех 45 мин наблюдения на первом этапе эксперимента (рис. 4, в). К 7-м и 14-м суткам наблюдения ПШ стабилизировался и статистически значимо не отличался от исходного уровня до ожога (см. таблицу). При множественном межгрупповом сравнении ПШ до ожога и через 45 мин после ожога  $p_{adjusted}$  составил 0,160; до ожога и на 7-е сутки после ожога — 1,000; до ожога и на 14-е сутки после ожога — 1,000; через 45 мин после ожога и на 7-е сутки после ожога — 0,008.

**Морфологические изменения тканей толстой кишки в разные сроки после моделирования термического ожога.** Гистологическое исследование стенки толстой кишки до нанесения ожога продемонстрировало нормальную слоистую структуру без признаков воспаления или нарушения кровообращения. Кровеносные сосуды в подслизистой основе представлены артериолами и венулами (рис. 5, а1), артериолы разветвляются в капилляры у дна крипт, образуя сеть в собственной пластинке слизистой оболочки (рис. 5, а2).

Через 45 мин после нанесения ожога наблюдался выраженный отек подслизистой основы с умеренным воспалительным инфильтратом лимфоцитами и нейтрофилами (рис. 5, б1). Артериолы были полнокровны, просвет венул расширен с пристеночным отложением гиалиноподобных масс, в просвете лимфатических сосудов — лимфа, богатая белками. В собственной пластинке слизистой оболочки наблюдалось множество капилляров с агрегацией эритроцитов и стазом (рис. 5, б2).

На 7-е сутки после нанесения ожога отек подслизистой оболочки отсутствовал, сохранялась инфильтрация нейтрофилами и лимфоцитами (рис. 5, в2). Артериолы и венулы имели нормальный вид. В собственной пластинке присутствовали единичные капилляры с агрегацией эритроцитов и гиалиновые тромбы (рис. 5, в3).

На 14-е сутки после нанесения ожога структура стенки кишки и сосудистого русла возвратилась к норме. Признаки полнокровия, стаза отсутствовали (рис. 5, г2, г3).

## Обсуждение

Проведенные исследования [3] показали, что нарушения кровотока в мезентериальном бассейне играют существенную роль в патогенезе ожоговой болезни.

Прогноз у пациентов из этой нозологической группы значительно ухудшается вместе с развитием острой мезентериальной ишемии, летальность среди них достигает 100%. В наблюдениях из комбустиологической практики описаны пациенты как с неокклюзионной (как правило), так и с окклюзионной формами острой мезентериальной ишемии. Механизм развития НОМИ у пациентов с критической площадью ожога активно изучается. Известно, что риск НОМИ возрастает вместе с увеличением площади ожога [21]. Вероятно, на ранних стадиях развития ожоговой болезни эта корреляция обусловлена тяжестью ожогового шока, который становится триггером перераспределения кровотока, обеднения висцерального кровеносного русла. Риск НОМИ особенно велик среди пациентов с термическими ожогами, осложненными полиорганной недостаточностью [22]. Выявление пациентов высокого риска в этой популяции имеет решающее значение для своевременного вмешательства с целью снижения риска летального исхода. Еще одна клиническая ситуация, сопряженная с высоким риском развития НОМИ у обожженных, — сепсис и септический шок. Особенности гемодинамики, характерные для этих состояний, являются патогенетическим звеном нарушений кровообращения в кишечнике.

Результаты нашего исследования подтверждают приведенные во введении данные и вместе с тем значительно углубляют и уточняют их. Установлено, что даже ожог сравнительно небольшой площади кожи (экспериментальная модель с термическим поражением 10% площади поверхности тела), который, как правило, не вызывает шокового состояния, становится триггером развития острого нарушения кровообращения в толстой кишке. Данные ОКА и ЛДФ свидетельствовали о том, что нарушения кровотока в стенке кишки начинали развиваться сразу же после нанесения ожога: изменения картины ЛДФ — в течение нескольких секунд, изменения картины ОКА — в течение нескольких минут, изменения гистологической картины — в течение нескольких суток. Возможность такой реакции локальных сегментов микроциркуляторного русла, не зависящей прямо от общей тяжести ожоговой травмы, описана в работе [23], однако мы показали ее проявления при исследовании пищеварительного тракта.

Механизм нарушений кровообращения, выявленных нами в стенке толстой кишки, по всей вероятности, обусловлен реакцией сосудистой сети на комплекс эндокринных и нейрогенных нарушений, возникающих в течение нескольких десятков секунд после термического ожога. Рост показателя шунтирования, установленный при ЛДФ-исследованиях, свидетельствует об увеличении вклада нейрогенной модуляции кровотока и росте амплитуды нейрогенных колебаний сосудистой стенки. ПШ вычисляется как отношение амплитуд нейрогенных и миогенных колебаний сосудистой стенки: чем выше амплитуда нейрогенных колебаний и меньше амплитуда

миогенных колебаний, тем выше ПШ. Рост значений ПШ отображает сокращение объема крови, поступающего в нутритивное (обменное) звено микроциркуляторной сети исследуемой ткани на фоне дилатации прекапиллярных сфинктеров [24]. Полученные нами данные позволяют с большой долей уверенности предположить, что основным механизмом нарушения кровообращения в кишечной стенке при получении термического ожога кожи является шунтирование крови в кишечной стенке в обход нутритивного звена микроциркуляторного русла. Ранее ЛДФ уже применялась для диагностики острой мезентериальной ишемии, информативность метода подтверждена [25]. Однако комплексные ОКА- и ЛДФ-данные о проявлениях и механизмах нарушения микроциркуляции в толстой кишке при термическом ожоге получены впервые. Оптическая когерентная ангиография, использованная нами для верификации и визуализации интрамуральных сосудов кишечной стенки, позволила определить значимый механизм развития НОМИ — выпадение из кровотока микрососудов диаметром менее 60 мкм за счет активизации работы сосудистых шунтов. Это заключение имеет анатомические и физиологические основания. Известно, что кровеносные сосуды толстой кишки идут из брыжейки в подслизистую основу, где разветвляются в капиллярные сети слизистой оболочки, мышечной оболочки и образуют артериоло-веноулярные шунты [26]. Шунтирование артериальной крови в обход нутритивного русла служит приспособительной реакцией, однако в нашем исследовании мы установили, что оно сопровождается патологическими последствиями — сокращением длины перфузируемых микрососудов, активизацией артериоло-веноулярных шунтов и другими острыми нарушениями кровообращения в кишечной стенке, которые купируются только на 7–14-е сутки после нанесения термического ожога в условиях отсутствия терапии.

## Заключение

Использование прижизненных методов исследования — ОКА и ЛДФ — позволило в эксперименте показать, что уже в течение первых 45 мин термический ожог вызывает значимые нарушения кровотока в стенке толстой кишки, которые в условиях отсутствия терапии приходят в норму лишь к 14-м суткам.

Полученные данные о механизме развития нарушений кровообращения в толстой кишке при ожогах могут стать основой для выбора терапии, направленной на предупреждение кишечной дисфункции у обожженных.

**Финансирование исследования.** Работа проведена при поддержке гранта Российского научного фонда №19-75-10096-п.

**Конфликт интересов.** У авторов нет конфликта интересов.

## Литература/References

1. Ng J.W., Cairns S.A., O'Boyle C.P. Management of the lower gastrointestinal system in burn: a comprehensive review. *Burns* 2016; 42(4): 728–737, <https://doi.org/10.1016/j.burns.2015.08.007>.
2. Yu Y., Zhang J., Wang J., Wang J., Chai J. Effect of blended protein nutritional support on reducing burn-induced inflammation and organ injury. *Nutr Res Pract* 2022; 16(5): 589–603, <https://doi.org/10.4162/nrp.2022.16.5.589>.
3. Soussi S., Taccori M., De Tymowski C., Depret F., Chaussard M., Fratani A., Jully M., Cupaciu A., Ferry A., Benyamina M., Serror K., Boccara D., Chaouat M., Mimoun M., Cattan P., Zagdanski A.M., Anstey J., Mebazaa A., Legrand M.; PRONOBURN group. Risk factors for acute mesenteric ischemia in critically ill burns patients — a matched case-control study. *Shock* 2019; 51(2): 153–160, <https://doi.org/10.1097/shk.0000000000001140>.
4. Варнер Д.О., Крылов К.М., Вербицкий В.Г., Шлык И.В. Профилактика желудочно-кишечных кровотечений у пациентов с обширными термическими ожогами. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова* 2018; 3: 42, <https://doi.org/10.17116/hirurgia2018342-48>.  
Vagner D.O., Krylov K.M., Verbitsky V.G., Shlyk I.V. Prevention of gastrointestinal bleeding in patients with advanced burns. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova* 2018; 3: 42, <https://doi.org/10.17116/hirurgia2018342-48>.
5. John A.A., Anand R., Frost J., Griswold J.A. Acute colonic pseudo-obstruction: a critical complication in burn patients. *Burns Open* 2022; 6(1): 37–41, <https://doi.org/10.1016/j.burnso.2021.11.003>.
6. He Q.L., Gao S.W., Qin Y., Huang R.C., Chen C.Y., Zhou F., Lin H.C., Huang W.Q. Gastrointestinal dysfunction is associated with mortality in severe burn patients: a 10-year retrospective observational study from South China. *Mil Med Res* 2022; 9(1): 49, <https://doi.org/10.1186/s40779-022-00403-1>.
7. Dvorak J.E., Ladhani H.A., Claridge J.A. Review of sepsis in burn patients in 2020. *Surg Infect (Larchmt)* 2021; 22(1): 37–43, <https://doi.org/10.1089/sur.2020.367>.
8. Yu B., Ko R.E., Yoo K., Gil E., Choi K.J., Park C.M. Non-occlusive mesenteric ischemia in critically ill patients. *PLoS One* 2022; 17(12): e0279196, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0279196>.
9. Ryabkov M., Sizov M., Bederina E., Zarubenko P., Peretyagin P., Moiseev A., Vorobiev A., Gladkova N., Zaitsev V., Kiseleva E. Optical coherence tomography angiography of the intestine: how to prevent motion artifacts in open and laparoscopic surgery? *Life (Basel)* 2023; 13(3): 705, <https://doi.org/10.3390/life13030705>.
10. Liang K., Ahsen O.O., Murphy A., Zhang J., Nguyen T.H., Potsaid B., Figueiredo M., Huang Q., Mashimo H., Fujimoto J.G. Tethered capsule en face optical coherence tomography for imaging Barrett's oesophagus in sedated patients. *BMJ Open Gastroenterol* 2020; 7(1): e000444, <https://doi.org/10.1136/bmjgast-2020-000444>.
11. Chu K.K., Zhao Y., Jelly E.T., Steelman Z.A., Crose M., Cox B., Ofori-Marfoh Y., Moussa L., Cirri H., Watts A., Shaheen N., Wax A. Esophageal OCT imaging using a paddle probe externally attached to endoscope. *Dig Dis Sci* 2022; 67(10): 4805–4812, <https://doi.org/10.1007/s10620-021-07372-w>.
12. Zuccaro G., Gladkova N., Vargo J., Feldchtein F., Zagaynova E., Conwell D., Falk G., Goldblum J., Dumot J.,

- Ponsky J., Gelikonov G., Davros B., Donchenko E., Richter J. Optical coherence tomography of the esophagus and proximal stomach in health and disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96(9): 2633–2639, <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2001.04119.x>.
13. Jansen S.M., de Bruin D.M., van Berge Henegouwen M.I., Strackee S.D., Veelo D.P., van Leeuwen T.G., Gisbertz S.S. Optical techniques for perfusion monitoring of the gastric tube after esophagectomy: a review of technologies and thresholds. *Dis Esophagus* 2018; 31(6): dox161; <https://doi.org/10.1093/dote/dox161>.
14. Kiseleva E., Ryabkov M., Baleev M., Bederina E., Shilyagin P., Moiseev A., Beschastnov V., Romanov I., Gelikonov G., Gladkova N. Prospects of intraoperative multimodal OCT application in patients with acute mesenteric ischemia. *Diagnostics (Basel)* 2021; 11(4): 705, <https://doi.org/10.3390/diagnostics11040705>.
15. Tian Y., Zhang M., Man H., Wu C., Wang Y., Kong L., Liu J. Study of ischemic progression in different intestinal tissue layers during acute intestinal ischemia using swept-source optical coherence tomography angiography. *J Biophotonics* 2024; e202300382, <https://doi.org/10.1002/jbio.202300382>.
16. Российское общество хирургов. *Острая неопухольная кишечная непроходимость (клинические рекомендации)*. М.; 2021. URL: <https://www.policlinika-fts.ru/upload/docs21/kr327-ostraya-neopuholevaya-kishechnaya-neprohodimost.pdf>.
- Russian Society of Surgeons. *Ostraya neopukhlevaya kishechnaya neprokhodimost' (klinicheskie rekomendatsii)* [Acute non-tumor intestinal obstruction (clinical guidelines)]. Moscow; 2021.
17. Berge S.T., Safi N., Medhus A.W., Anonsen K., Sundhagen J.O., Hisdal J., Kazmi S.S.H. Gastroscopy assisted laser Doppler flowmetry and visible light spectroscopy in patients with chronic mesenteric ischemia. *Scand J Clin Lab Invest* 2019; 79(7): 541–549, <https://doi.org/10.1080/00365513.2019.1672084>.
18. Sheng L., Hu F., Yu H., Tao X., Jia R., Gu Y., Chen L., Kong H., Miao C., Fei W., Yang Y., Jia J., Zhu X., He X., Hu L., Ma J., Liu W.T., Yang M. Paeoniflorin inhibits ASK1-TF axis by up-regulating SOCS3 to alleviate radiation enteritis. *Front Pharmacol* 2022; 13: 743708, <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.743708>.
19. Yu Q., Yang X., Zhang C., Zhang X., Wang C., Chen L., Liu X., Gu Y., He X., Hu L., Liu W.T., Li Y. AMPK activation by ozone therapy inhibits tissue factor-triggered intestinal ischemia and ameliorates chemotherapeutic enteritis. *FASEB J* 2020; 34(9): 13005–13021, <https://doi.org/10.1096/fj.201902717rr>.
20. Tuncer F.B., Durmus Kocaaslan F.N., Yildirim A., Sacak B., Arabaci Tamer S., Sahin H., Cinel L., Celebiler O. Ischemic preconditioning and iloprost reduces ischemia-reperfusion injury in jejunal flaps: an animal model. *Plast Reconstr Surg* 2019; 144(1): 124–133, <https://doi.org/10.1097/prs.0000000000005708>.
21. Muschitz G.K., Fochtmann A., Keck M., Ihra G.C., Mittlböck M., Lang S., Schindl M., Rath T. Non-occlusive mesenteric ischaemia: the prevalent cause of gastrointestinal infarction in patients with severe burn injuries. *Injury* 2015; 46(1): 124–130, <https://doi.org/10.1016/j.injury.2014.08.035>.
22. Kowal-Vern A., McGill V., Gamelli R.L. Ischemic necrotic bowel disease in thermal injury. *Arch Surg* 1997; 132(4): 440–443, <https://doi.org/10.1001/archsurg.1997.01430280114020>.
23. Hernekamp J.F., Neubrech F., Cordts T., Schmidt V.J., Kneser U., Kremer T. Influences of macrohemodynamic conditions on systemic microhemodynamic changes in burns. *Ann Plast Surg* 2016; 77(5): 523–528, <https://doi.org/10.1097/sap.0000000000000868>.
24. Королев А.И., Федорович А.А., Горшков А.Ю., Дадаева В.А., Ким О.Т., Михайлова М.А., Васильев Д.К., Джиева О.Н., Акашева Д.У., Драпкина О.М. Параметры микроциркуляторного кровотока в коже верхних конечностей у здоровых мужчин трудоспособного возраста. *Профилактическая медицина* 2021; 24(7): 60–69, <https://doi.org/10.17116/profmed20212407160>.
- Korolev A.I., Fedorovich A.A., Gorshkov A.Yu., Dadaeva V.A., Kim O.T., Mikhailova M.A., Vasilyev D.K., Dzhiyeva O.N., Akasheva D.U., Drapkina O.M. Upper limbs skin microvascular characteristics in healthy men of working age. *Profilakticheskaya meditsina* 2021; 24(7): 60–69, <https://doi.org/10.17116/profmed20212407160>.
25. Aksoy N., Kaplan D.S., Orkmez M., Eronat Ö. Evaluation of intestinal necrosis with laser Doppler in experimental mesenteric ischemia model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2024; 30(1): 1–8, <https://doi.org/10.14744/tjtes.2024.38399>.
26. Wang L., Yuan P.Q., Taché Y. Vasculature in the mouse colon and spatial relationships with the enteric nervous system, glia, and immune cells. *Front Neuroanat* 2023; 17: 1130169, <https://doi.org/10.3389/fnana.2023.1130169>.