

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 616.5-0023:615.832.97

doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-2-164-168

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ПРИ ЛОКАЛЬНОМ КРИОВОЗДЕЙСТВИИ НА ГНОЙНУЮ РАНУ

*Сергей Сергеевич Маскин, Александр Владимирович Павлов[✉],
Любовь Александровна Иголкина*

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

[✉]necronimus@yandex.ru

Резюме. В свете существенных перспектив применения элементов физических факторов обработки в терапии гнойных заболеваний мягких тканей особого внимания заслуживает локальное криовоздействие при дебридменте гнойных ран.

Цель работы: изучить изменения в гистологической и микробиологической картине при криообработке модели гнойной раны.

Материал и методы. Смоделированы поверхностные гнойные раны мягких тканей на 40 самцах крыс линии Wistar. Выполнено динамическое микробиологическое исследование раневых мазков и гистологических биоптатов при криовоздействии и без вмешательства в ход раневого процесса.

Результаты. При обработке криовоздействием выявлено статистически значимое ускорение элиминации возбудителя из раны, быстрое развитие свежей соединительной ткани и восстановление микрососудистого русла, активизация темпов эпителизации.

Выводы. Дебридмент с использованием локальной криообработки способствует быстрой элиминации возбудителя из раны, активизирует процессы грануляции и эпителизации. Обосновано дальнейшее клиническое изучение и внедрение в практику локального криовоздействия при гнойных заболеваниях мягких тканей.

Ключевые слова: гнойная рана, дебридмент, микробиологическое исследование, гистологическое исследование, локальное криовоздействие

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

MICROBIOLOGICAL AND HISTOLOGICAL PICTURE IN LOCAL CRYO IMPACT ON A SUPPURATING WOUND

Sergey S. Maskin, Alexander V. Pavlov[✉], Lyubov A. Igolkina

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

[✉]necronimus@yandex.ru

Resume. In light of the significant perspectives for the use of elements of physical processing factors in the treatment of purulent diseases of soft tissues, special attention should be paid of local cryoinfluence in the debridement of purulent wounds.

Purpose of the work: to study changes in the histological and microbiological picture during cryo-treatment of a purulent wound model.

Material and methods. Superficial purulent wounds of soft tissues were modeled on 40 male Wistar rats. A dynamic microbiological study of wound smears and histological biopsy specimens was performed with cryotherapy and without interfering with the course of the wound process.

Results. The treatment with cryotherapy revealed a statistically significant acceleration of the elimination of the pathogen from the wound, the rapid development of fresh connective tissue and the restoration of the microvascular bed, and the activation of the rate of epithelialization.

© Маскин С.С., Павлов А.В., Иголкина Л.А., 2022

Conclusions. Debridement and the use of local cryoprocessing contributes to the rapid elimination of the pathogen from the wound, activates the processes of granulation and epithelialization. Further clinical study and introduction into practice of local cryotherapy in purulent diseases of soft tissues is substantiated.

Keywords: purulent wound, debridement, microbiological examination, histological examination, local cryotherapy

В настоящее время сохраняется значимость гнойных заболеваний мягких тканей (ГЗМТ) как важной и трендовой темы для научного дискурса и изучения [1]. Специфичной чертой ГЗМТ является непрерывная диверсификация и вариабельность антибиотикорезистентности возбудителей [2], из-за чего весьма востребовано развитие неконвенциональных подходов к лечению [3]. Чрезвычайно многообещающими в настоящее время признаются способы обработки с включением физических компонентов воздействия на гнойный раневой процесс. Перспективным, но до сих пор не достаточно глубоко изученным является метод локального криовоздействия (ЛК). У указанного варианта дебридмента есть несколько важных положительных качеств: низкий порог освоения [4], значительный антисептический потенциал, отсутствие развития устойчивых микроорганизмов [5], отсутствие выраженного общесистемного влияния на организм [6].

Тем не менее точные механизмы, детальные патологоанатомические изменения на тканевом уровне при применении дебридмента гнойной и заживающей раны с точечным использованием ЛК в недостаточной степени отслежены и проработаны [7], в связи с чем затруднена имплементация и исследование ЛК в рамках клинической практической деятельности [8].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Экспериментальное исследование микробиологической и гистологической картины при использовании сверхнизких температур в дебридменте гнойного процесса мягких тканей.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовательская деятельность осуществлялась с учетом требований ГОСТ Р 53434-2009 г., дизайн исследования одобрен решением № 11-2015 Этического комитета Волгоградского государственного медицинского университета. Для создания модели гнойной раны использовано 40 самцов крыс Wistar-Kyoto возрастной категории 10–11 месяцев, весовой категории 180–198 г. Была произведена разбивка животных на 2 равные группы. Внутримышечно вводился медетомидин гидрохлорид, дозировка 0,25 мг. Выполнялось иссечение округлого участка диаметром 1,9 см, площадью $(3,1 \pm 0,3) \text{ см}^2$.

Потеря крови при манипуляции не более 0,6 мл. Время выполнения манипуляции не превышало 5-минутный интервал.

В основание раны выполнялась инъекция 2,0 мл взвеси *Staphylococcus aureus*, культивированных на агаре Фогеля – Джонсона, в концентрации $1,2 \times 10^9 \text{ log}_{10} \text{ КОЕ/мл}$, с контролем при помощи мутномера Den-1В, компания Biosan, Латвия.

Через 2 дня с момента выполнения манипуляций у крыс фиксирован развернутый гнойно-воспалительный процесс в созданной ране. Раны у животных контрольной группы заживали без дополнительных вмешательств извне. В основной группе ежедневно, один раз в день, производили дебридмент раны парово-капельной струей, создаваемой из 40 мл жидкого азота криоаппаратом CryoPro, компания Cortex Technology, Дания, дистанция до раневой поверхности 35 мм, продолжительность 6 с.

Дебридмент выполнялся в течение первой (экссудативной) фазы процесса заживления раны и прекращался при купировании симптомов гнойного воспаления.

Для микробиологического исследования на 3-и и 5-е сутки выполнялось взятие мазков раневого отделяемого со стенок ран стерильным марлевым тампоном. Производилось количественное определение бактериальной обремененности титрационным методом посева смывов раневого отделяемого на агар Байрд – Паркера с подсчетом числа образуемых колоний.

Для гистологического исследования, через 5 часов после специфического воздействия на рану, производилась щипковая биопсия (под описанным выше наркозом) на 5, 9-е и 13-е сутки от начала эксперимента. В 1-й фазе материал брали со дна раны, во 2-й и 3-й фазе – с края раны. Выполняли фиксацию препаратов в забуференном по Лилли 10%-м растворе формалина с добавлением 2%-го фенола. Затем препараты были обработаны парафином и выполнялись срезы толщиной 5 мкм, окрашиваемые в дальнейшем гематоксилин-эозином. Гистологическое исследование осуществлялось с использованием микроскопа Levenhuk D400 LCD, Levenhuk, Inc. (США).

Проверка на отличие от нормального распределение проводилась по критерию Лиллиефорса. Для заданного уровня $\alpha = 0,05$ отличий от распределения Гаусса – Лапласа, имеющих статистическую значимость, не зафиксировано.

В исследовании задействованы методы дескриптивной статистики: выполнен подсчет выборочного среднего (M) и стандартной ошибки средней арифметической величины (m). Анализ полученных данных осуществлялся по методике ANOVA, проводился в программе Microsoft Excel, компания Microsoft, США.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные по динамике высеивания бактериальной микрофлоры из раневого отделяемого в исследованных группах животных представлены в таблице.

Динамика изменения бактериальной обсемененности раневого отделяемого

День от начала эксперимента	Контрольная группа (n = 20), КОЕ/мл* log10	Группа с КВ (n = 20), КОЕ/мл* log10	Уровень значимости (p)
3-и сутки	106,80 ± 0,66	103,40 ± 0,68	$f_{набл.} = 6,06$ (0,05; 1; 38) = 4,08 $f_{набл.} > f_{крит.} P < 0,05$
5-е сутки	103,50 ± 0,73	101,20 ± 0,68	$f_{набл.} = 7,6$ (0,05; 1; 38) = 4,08 $f_{набл.} > f_{крит.} P < 0,05$

К 3-м суткам в группе контрольная у 80 % животных отмечается высеивание патогенной микрофлоры, что является наибольшим показателем среди прочих групп. В группе с левомеколем рост микрофлоры отмечается у 60 % животных, в группе с криовоздействием – у 40 %, в группе с комбинированной обработкой микрофлора давала рост лишь у 20 % животных.

На 5-е сутки у всех животных с обработкой криовоздействием роста патогенной микрофлоры не отмечалось.

На 5-е сутки в контрольной группе в биоптате из раны наблюдалось большое количество тканевого детрита, под которым определялись скопления из сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов, диапедезные геморрагические участки. Сосуды микроциркуляции дилатированы с множеством микротромбов.

В группе с КВ наблюдалась похожая картина, детрит, фибрино-лейкоцитарные массы. Лейкоцитарная инфильтрация нейтрофилами с единичными макрофагами и фибробластами (грануляционные процессы) (рис. 1).

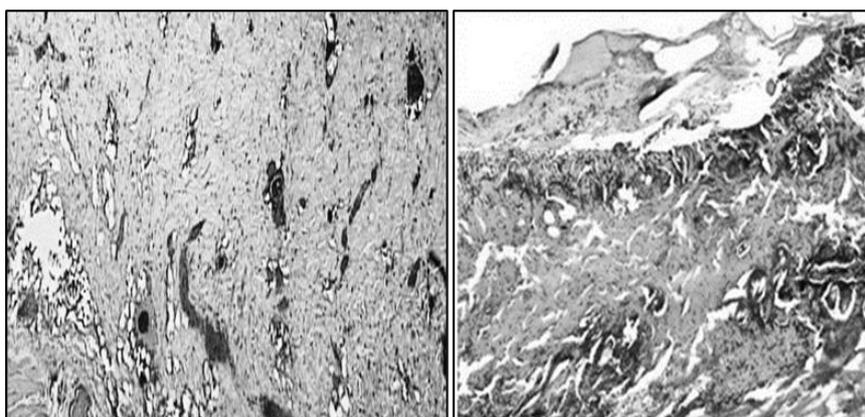


Рис. 1. Контрольная группа и группа с локальным криовоздействием, 5-е сутки. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. ×50

На 9-е сутки в контрольной группе в препаратах детрит фибрино-лейкоцитарные массы. Лейкоцитарная инфильтрация представлена макрофагами. Вокруг сосудов определялись очаговые лимфоцитарные инфильтраты и в незначительном количестве единичные поверхностные сосудистые петли и вертикальные сосуды.

В группе с КВ определялся созревающий слой с пучками горизонтально расположенных фибробластов. Наблюдалась молодые эпителиальные клетки с базофильной цитоплазмой и разрастание васкуляризированной рыхловолокнистой соединительной ткани в краях раны (процессы эпителизации) (рис. 2).

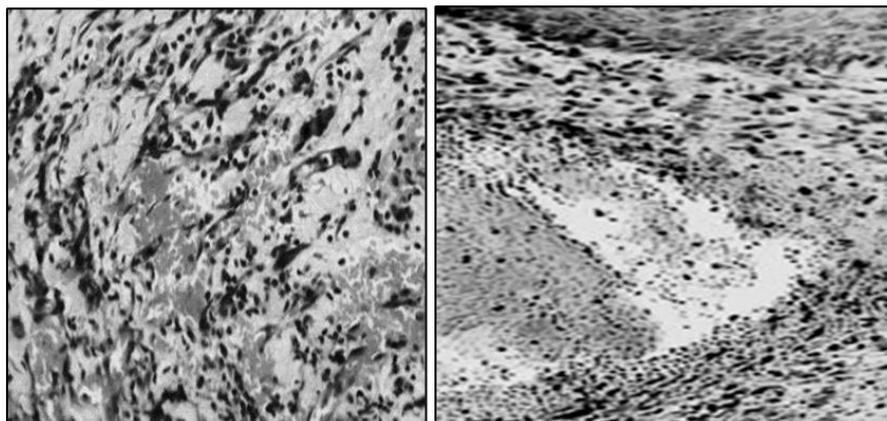


Рис. 2. Контрольная группа и группа с локальным криовоздействием, 9-е сутки.
Окраска гематоксилин-эозин. Ув. $\times 200$

На 13-е сутки в контрольной группе визуализировались хорошо выраженные поверхностные сосудистые петли и вертикальные сосуды. Клеточная инфильтрация макрофагами и фибробластами.

По краям раны наблюдались молодые эпителиальные клетки с базофильной цитоплазмой и разрастание васкуляризированной рыхловолокнистой

соединительной ткани в краях раны. В группе с КВ в биоптате определялись пучки горизонтально расположенных фибробластов, васкуляризированная рыхлая волокнистая соединительная ткань, при этом в группе с КВ+МЛ уже определялся грубоволокнистый коллаген дермы (процессы рубцевания) (рис. 3).

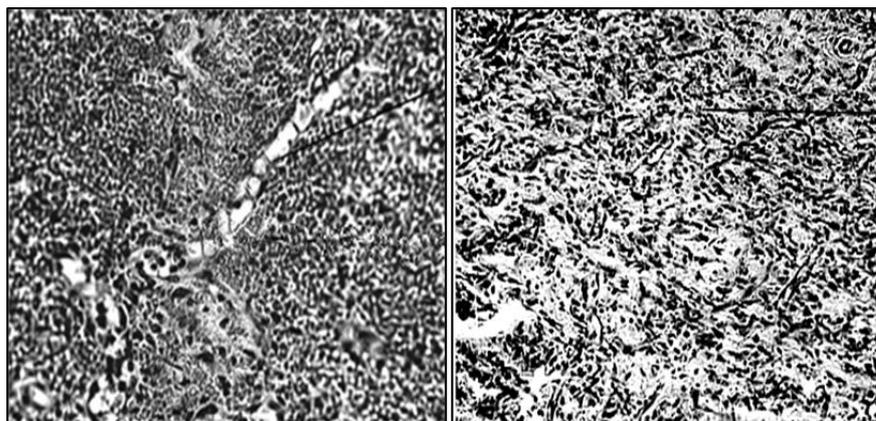


Рис. 3. Контрольная группа и группа с локальным криовоздействием, 13-е сутки.
Окраска гематоксилин-эозин. Ув. $\times 200$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования выявлено, что дебридмент гнойной раны с использованием локального криовоздействия способствует быстрой элиминации возбудителей в раневой зоне, значительно интенсифицирует грануляционные и эпителизационные процессы. Подтверждена безопасность применения криовоздействия. Зафиксированные морфологические и гистологические изменения подтверждают целесообразность расширенного клинического изучения возможностей криовоздействия по ускорению и улучшению результатов лечения гнойных заболеваний мягких тканей.

REFERENCES

1. Farhangian M.E., Snyder A., Huang K.E., Doerfler L., Huang W.W., Feldman S.R. Cutaneous cryosurgery in the United States. *J Dermatolog Treat.* 2016;27(1):91–94.
2. Pagliarello C., Fabrizi G., di Nuzzo S. Cryoinsufflation for Hidradenitis Suppurativa: Technical Refinement to Prevent Complications. *Dermatol Surg.* 2016;42(1):130–132.
3. Colenci R., Abbade L.P. Fundamental aspects of the local approach to cutaneous ulcers. *An Bras Dermatol.* 2018;93(6):859–870.
4. Martinengo L., Olsson M., Bajpai R. Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Ann Epidemiol.* 2019;29:8–15.

5. Vos T., Allen C., Arora M. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016;388(10053):1545–1602.

6. De Souza C.P., Lucas R., Ramadinha R.H., Pires T.B. Cryosurgery in association with itraconazole for the treatment of feline sporotrichosis. *J Feline Med Surg*. 2016;18(2):137–143.

7. Baust J.G., Gage A.A., Bjerklund Johansen T.E., Baust J.M. Mechanisms of cryoablation: clinical consequences on malignant tumors. *Cryobiology*. 2014;68(1):1–11.

8. Albu S., Trombitas V., Vlad D., Emanuelli E. The influence of spray cryotherapy on wound healing following endoscopic sinus surgery in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2016;126(1):25–32.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах

С.С. Маскин – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; maskin@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5275-4213>

А.В. Павлов – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной хирургии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; necronimus@yandex.ru

Л.А. Иголкина – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной хирургии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; igolkinal@mail.ru

Статья поступила в редакцию 11.03.2022; одобрена после рецензирования 12.05.2022; принята к публикации 30.05.2022.

The authors declare no conflicts of interests.

Information about the authors

S.S. Maskin – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; maskin@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5275-4213>

A.V. Pavlov – Candidate of Medical Sciences, Assistant of the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; necronimus@yandex.ru

L.A. Igoalkina – Candidate of Medical Sciences, assistant of the Department Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; igolkinal@mail.ru

The article was submitted 11.03.2022; approved after reviewing 12.05.2022; accepted for publication 30.05.2022.