

© Коллектив авторов, 2023
УДК 617-089.844; 616-08-031.84
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18093>
ISSN – 2073-8137

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭРБИЕВОГО ЛАЗЕРА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТРОФИЧЕСКИХ ГНОЙНЫХ РАН В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А. Е. Зайцев ¹, О. Н. Асанов ², И. А. Чекмарёва ³

¹ Филиал № 1 419 Военного госпиталя, Ейск, Российская Федерация

² Филиал Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Москва, Российская Федерация

³ Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского, Москва, Российская Федерация

ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF THE ERBIUM LASER IN THE TREATMENT OF TROPHIC PURULENT WOUNDS IN AN EXPERIMENT

Zaitsev A. E. ¹, Asanov O. N. ², Chekmareva I. A. ³

¹ Branch № 1 of 419 Military Hospital, Yeisk, Russian Federation

² The branch of the Military Medical Academy named after S. M. Kirov, Moscow, Russian Federation

³ National Medical Research Center of Surgery named after A. V. Vishnevsky, Moscow, Russian Federation

Экспериментальное исследование проводили на 80 белых крысах, которые были разделены на 4 равные группы: в 1-й лечебные средства не использовали, во 2-й применяли антисептик (полигексанид), в 3-й раны обрабатывали эрбиевым лазером, а в 4-й группе лазерную обработку дополняли применением полигексанида. Результаты оценивали визуально с помощью планиметрии, бактериологического, цитологического и морфологического исследований. В ходе наблюдения отмечалась положительная динамика во всех группах, кроме 1-й, где формировались признаки хронизации воспалительного процесса. Результаты достоверно не различались в группах лазерного и комбинированного лечения, но были несколько лучше по сравнению со 2-й группой. Использование эрбиевого лазера в нескольких режимах способствовало эффективному очищению, деkontаминации и заживлению экспериментальных ран.

Ключевые слова: эрбиевый лазер, гнойные раны, трофические язвы, раневой процесс, эксперимент

An experimental study was carried out on 80 white rats, divided into 4 equal groups: in the 1st group, no therapeutic agents were used, in the 2nd, an antiseptic (polyhexanide) was used, in the 3rd, the wounds were treated with an erbium laser, and in the 4th, the laser treatment was completed with the use of polyhexanide. The results were evaluated using visual assessment of wounds, planimetry, bacteriological, cytological and morphological studies. During the observation, positive dynamics was noted in all groups, except the 1st one group, where was detected the signs of a chronic inflammatory process. The results did not differ significantly in the laser and combined treatment groups, but were slightly higher compared to the 2nd group. The use of an erbium laser in several modes contributed to the effective cleansing, decontamination and healing of experimental wounds.

Keywords: erbium laser, purulent wounds, trophic ulcers, wound process, experiment

Для цитирования: Зайцев А. Е., Асанов О. Н., Чекмарёва И. А. АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭРБИЕВОГО ЛАЗЕРА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТРОФИЧЕСКИХ ГНОЙНЫХ РАН В ЭКСПЕРИМЕНТЕ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2023;18(4):394-397. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18093>

For citation: Zaitsev A. E., Asanov O. N., Chekmareva I. A. ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF THE ERBIUM LASER IN THE TREATMENT OF TROPHIC PURULENT WOUNDS IN AN EXPERIMENT. *Medical News of North Caucasus*. 2023;18(4):394-397. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18093> (In Russ.)

Раны различного происхождения являются одной из самых распространенных хирургических патологий [1, 2]. Среди множества различных препаратов и немедикаментозных средств свою нишу занимает лазерное излучение, при определенных параметрах которо-

го можно эффективно санировать раны и стимулировать процессы их заживления [3–5]. Некоторые виды лазерных аппаратов способны комплексно воздействовать на ткани и применимы во всех фазах раневого процесса [6, 7].

Высокоинтенсивный эрбиевый лазер с длиной волны 2,94 мкм в режиме ультракоротких (около 300 нс) импульсов позволяет производить контролируемую некрэктомию и санацию раны путём выпаривания (абляции). При этом не происходит термического повреждения подлежащих тканей, что выгодно отличает данный тип лазеров от остальных. Следствием такого воздействия является эффективное удаление раневого детрита, нежизнеспособных тканей и микробных биоплёнок. Также в эрбиевом лазере имеется режим пространственно-модулированной абляции (SMA-режим), суть которого заключается в преобразовании лазерного излучения в механические волны, распространяющиеся вглубь тканей. Интерференция таких волн вызывает эффект резонанса на глубине до 6 мм и создаёт участки микротравматизации в дерме, благодаря чему инициируется механизм ускоренной регенерации. Работа лазера в SMA-режиме позволяет эффективно стимулировать заживление ран во второй и третьей фазах раневого процесса без образования грубых рубцов [8, 9].

Целью данного исследования являлась оценка эффективности применения высокоинтенсивного эрбиевого лазера для лечения трофических гнойных ран в эксперименте на крысах с помощью визуальной оценки, планиметрии, бактериологического, цитологического и морфологического исследований.

Материал и методы. Для эксперимента были отобраны здоровые нелинейные белые крысы (самцы) массой от 180 до 210 г, всего 80 животных. Моделирование раневого процесса производили по оригинальной методике с использованием специального силиконового диска [10].

Экспериментальные животные были разделены на четыре группы, по 20 в каждой. В первой (контрольной) группе, перевязки ран осуществлялись через день, с использованием 0,9 % раствора NaCl. Во второй группе таким же образом, как и в контрольной, перевязки осуществляли с использованием современного антисептика – полигексанида. В третьей группе применяли высокоинтенсивный эрбиевый лазер в разных режимах в соответствии с фазой раневого процесса. В первой фазе применяли режим лазерной абляции с выпариванием раневого детрита и нежизнеспособных тканей по типу хирургической обработки. Сразу же после этого рану обрабатывали в SMA-режиме. С очищением раны и наступлением последующих фаз раневого процесса лазерное воздействие осуществляли только в SMA-режиме для стимуляции регенерации. В четвёртой группе аналогичным образом производили обработку раны аппаратом, а также раствором полигексанида по описанной выше методике. Сеансы проводили через день, плотность мощности лазера в режиме абляции составляла 10 Дж/см², а в режиме стимуляции регенерации – 1,8 Дж/см² с частотой импульсов 2–3 Гц.

Эффективность методов лечения в группах оценивали на 1, 3, 5, 7 и 12 дни наблюдения. Проводили визуальную оценку с определением сроков очищения раны, появления зрелых грануляций и заживления (уменьшения площади более 50 %). Планиметрию экспериментальных ран выполняли по цифровым фотографиям с помощью компьютерной программы ImageJ. Цитологическое исследование мазков-отпечатков раневой поверхности проводили по методу М. П. Покровской и М. С. Макарова с определением типа цитограммы. Брали посевы из ран с качественным и количественным исследованием микрофлоры. Уровень обсеменённости анализировали полуквантитативным методом с диапазонами: стерильная рана –

нет роста; низкая обсеменённость – до 10³ КОЕ/мл; средняя обсеменённость – от 10³ КОЕ/мл до 10⁵ КОЕ/мл; выраженная обсеменённость – более 10⁵ КОЕ/мл.

Морфологическое исследование включало световую микроскопию препаратов, полученных при биопсии из центра раны, а также изучение их ультраструктуры при помощи электронного микроскопа JEM 100-CX (JEOL, Япония) в трансмиссионном режиме при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Статистическую обработку данных производили с помощью программы Microsoft Excel 2019 и STATISTICA 12 (StatSoft, США). Для оценки статистической значимости различия количественных данных использовали U-test Манна – Уитни, для качественных данных – критерий χ^2 Пирсона, для оценки связи рангового показателя с групповым фактором использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение. При визуальной оценке экспериментальных ран очищение от детрита наступало достоверно раньше ($p < 0,001$) во 2-й группе ($7,9 \pm 0,3$ сут) по сравнению с 1-й ($11,6 \pm 0,2$ сут), а также в 3-й ($5,1 \pm 0,2$ сут) и 4-й ($5,0 \pm 0,3$ сут) группах по сравнению со 2-й ($p < 0,001$). Такая же тенденция наблюдалась при визуальной оценке и других показателей. Зрелые грануляции появлялись в первой группе в среднем на 14 сутки, во второй группе – на 9 сутки, а в третьей и четвёртой группах – на 7 сутки ($p < 0,001$). Заживление (уменьшение площади ран более 50 %) в первой группе наступало в среднем на 16 сутки, во второй группе на 12 сутки, а в третьей и четвёртой на 8 сутки наблюдения ($p < 0,001$).

Размеры экспериментальных ран во всех группах изначально не различались ($p > 0,05$). Однако уже на третьи сутки возникало значимое уменьшение средней площади в 3-й ($402,0 \pm 2,4$ мм²) и 4-й группах ($398,0 \pm 2,3$ мм²) по сравнению с первой ($413,6 \pm 0,9$ мм²) ($p < 0,001$). На пятые сутки средняя площадь ран во 2-й группе ($363,6 \pm 2,6$ мм²) была достоверно меньше, чем в 1-й ($380,8 \pm 2,3$ мм²), но при этом больше, чем в 3-й ($330,6 \pm 4,5$ мм²) и 4-й ($323,7 \pm 4,9$ мм²) ($p < 0,001$). Такая же тенденция сохранялась и на седьмые сутки наблюдения. На двенадцатые сутки средняя площадь ран в 1-й группе ($263,8 \pm 5,2$ мм²) была значимо больше, чем во 2-й ($195,8 \pm 5,6$ мм²), 3-й ($112,4 \pm 6,5$ мм²) и 4-й ($105,0 \pm 9,4$ мм²) группах ($p < 0,001$).

При бактериологическом исследовании во всех группах в первые сутки наблюдения степень обсеменённости ран не различалась ($p > 0,05$). Качественный состав флоры в течение всего периода наблюдения закономерно был представлен монокультурой *St. aureus* (ATCC 25923), внесённой ранее в рамках эксперимента. На пятые сутки микробное загрязнение ран уже отличалось в зависимости от группы ($p < 0,001$). В 1-й группе преобладала выраженная обсеменённость (70 %), во второй средняя (65 %), а в 3-й и 4-й – низкая (по 55 %). На двенадцатые сутки наблюдения различия в группах по степени микробного загрязнения становились более очевидными ($p < 0,001$). Низкий уровень обсеменённости и стерильные раны практически не встречались в 1-й группе, но наблюдались во 2-й группе (25 %) и в большинстве посевов 3-й и 4-й групп (65 % и 70 % соответственно).

По результатам цитологического анализа мазков-отпечатков из ран животных на первые сутки выявлялось преобладание дегенеративно-воспалительного и некротического типов без достоверного различия в зависимости от группы ($p > 0,05$). На пятые сутки отмечалась положительная динамика, а результаты в группах уже различались в зависимости от ме-

тогда лечения ($p < 0,001$). В 1-й группе преобладал дегенеративно-воспалительный тип (75 %), во 2-й и 3-й – воспалительный (75 % и 70 % соответственно), а в 4-й – воспалительно-регенераторный (50 %). На двенадцатые сутки в 1-й группе преобладал воспалительный тип мазков (50 %), а воспалительно-регенераторный встречался только у трёх животных. Во 2-й, 3-й и 4-й группах преобладал воспалительно-регенераторный тип (60 %, 55 % и 60 % соответственно), при этом в группах применения лазера в 35 % встречался и регенераторный тип мазков, характерный для процессов активного заживления ($p < 0,001$).

При морфологическом исследовании биоптатов во всех группах поверхность ран изначально была густо инфильтрирована лейкоцитами, эритроцитами и лимфоцитами (рис. 1А). Фагоцитарная функция клеток была угнетена. Обнаруживались скопления микробов, заключенных в биопленку со сложной структурной организацией (рис. 1В).

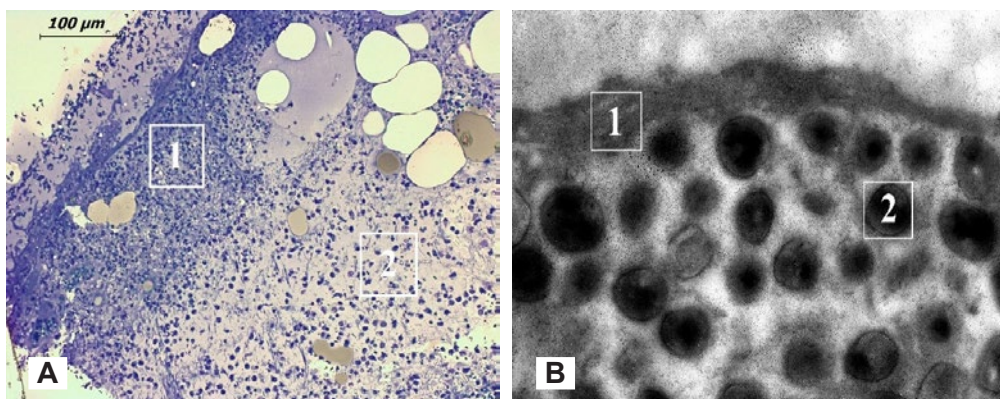


Рис. 1. Морфология гнойной раны до лечения:

А – 1 – поверхностный лейкоцитарно-некротический слой;
2 – зона воспаления; В – микроорганизмы, заключенные в биопленку,
1 – многослойная биопленка; 2 – микробные клетки.
А – световая микроскопия, окраска толуидиновым синим; В – электронограмма, ув. $\times 23000$

На третьи сутки в 1-й группе сохранялась лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация, микробные клетки, находящиеся внеклеточно и внутриклеточно, сохраняли свою ультраструктуру, в том числе и за счёт сохранности биоплёнок. В эти же сроки во 2-й, 3-й и 4-й группах на фоне незначительных воспалительных изменений наблюдалось нарушение целостности биопленок, а также частичное или полное разрушение микроорганизмов (рис. 2 А, В).

На фоне применения SMA-режима эрбиевого лазера на пятые сутки раны заполнялись хорошо развитыми грануляциями с функционально активными фибробластами, макрофагами и новообразованными сосудами. В эти же сроки во 2-й группе раневой дефект заполняла молодая, растущая грануляционная ткань, а в 1-й (контрольной) группе сохранялись признаки активного гнойно-воспалительного процесса (рис. 3).

На двенадцатые сутки грануляционная ткань остаточных ран в 3-й и 4-й группах отличалась особенной зрелостью – уменьшилось число сосудов, клеток, увеличилась масса коллагеновых волокон. Во 2-й группе зрелая грануляционная ткань с капиллярными петлями и фибробластами среди волокон синтезированного коллагена полностью заполняла раневые дефекты. В 1-й группе площадь остаточных ран была больше, а степень зрелости грануляционной ткани ниже, чем в других группах.

Заключение.

На разработанной модели гнойной раны была подтверждена эффективность применения высокоинтенсивного эрбиевого лазера, работающего в двух режимах. Воздействие оптического излучения с определёнными параметрами способствовало более раннему очищению ран, продуктивному созреванию грануляций и ускоренной эпителизации раневых дефектов в опытных группах. Объективные данные, полученные в результате бактериологического и цитологического исследований, позволили судить о создании изначально одинаковых условий в эксперименте, которые соответствовали I фазе осложнённого раневого процесса. В ходе наблюдения отмечалась положительная динамика во всех группах, кроме 1-й, где в отсутствие лечебных средств формировались признаки хронизации воспалительного процесса в раневых дефектах. Результаты посевов и цитологического анализа достоверно не различались в группах лазерного и комбинированного лечения, но были несколько выше по сравнению с группой применения антисептика. Морфологический анализ также подтвердил наличие гнойно-воспалительного процесса у всех животных в первый день наблюдения и наличие биоплёночных форм бактерий, которые элиминируются при воздействии эрбие-

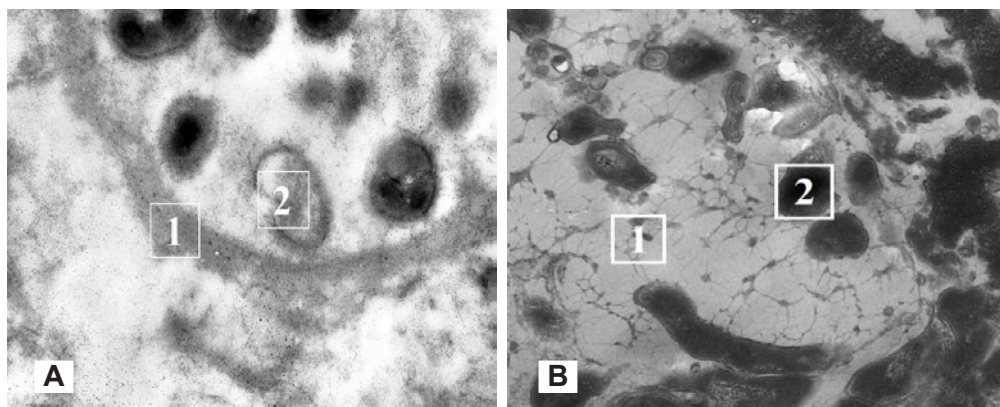


Рис. 2. Морфология гнойной раны на 3-и сутки лечения:

А – 1 – набухшая биопленка; 2 – деструктивно изменённые микробные клетки (2-я группа);
В – 1 – разрыв изменённой биопленки после обработки раны эрбиевым лазером в режиме абляции; 2 – деструкция микробных клеток (3-я группа).
Электронограммы. А – ув. $\times 28000$; В – ув. $\times 16000$

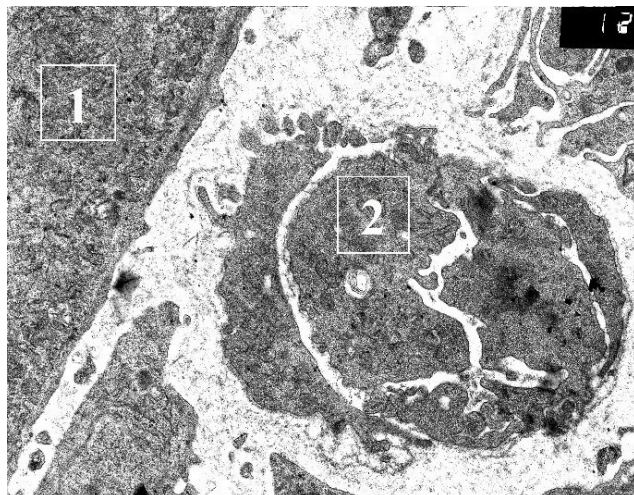


Рис. 3. Морфология гнойной раны на 5-е сутки лечения на фоне применения SMA-режима эрбиевого лазера: 1 – фибробласт; 2 – новообразованный капилляр. Электронограмма, ув. x 28000

вого лазера и полигексанида. Напротив, в контрольной группе сообщества микроорганизмов сохраняли свою жизнеспособность, а процессы репарации были в значительной степени снижены.

Стоит отметить, что в исследовании не стояло прямой задачи сравнивать физический метод воздействия на экспериментальные раны и мест-

ную лекарственную терапию, которая применялась без предварительной хирургической обработки. Однако полученные в рамках данной работы данные позволили подчеркнуть эффективность воздействия эрбиевого лазера на раневые процессы как отдельно, так и в составе комбинированного лечения. Данный метод является весьма перспективным и нуждается в дальнейших исследованиях для более широкого внедрения в клиническую практику.

Информированное согласие: Экспериментальное исследование проведено в полном соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики (изложенными в национальном стандарте «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434–2009), с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о «Защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1986), в соответствии с международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Россия, 2011), правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003) и положительным заключением этического комитета ФГБУ «ГВКГ им. Н. Н. Бурденко» (Протокол № 247 от 27.10.2021).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Olsson M., Järbrink K., Divakar U., Bajpai R., Upton Z. [et al.]. The humanistic and economic burden of chronic wounds: A systematic review. *Wound Repair. Regen.* 2019;27(1):114-125. <https://doi.org/10.1111/wrr.12683>
2. Jones R. E., Foster D. S., Longaker M. T. Chronic Wounds: Innovations in Diagnostics and Therapeutics. *JAMA.* 2018;320(14):1481-1482. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.12426>
3. Santana C. L., Teixeira Silva D. F., Deana A. M., Prates R. A., Souza A. P. [et al.]. Tissue responses to postoperative laser therapy in diabetic rats submitted to excisional wounds. *PLoS ONE.* 2015;10(4):e0122042. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122042>
4. Hajhosseini B., Chiou G. J., Dori G., Fukaya E., Chandra V. [et al.]. Er:YAG laser vs. sharp debridement in management of chronic wounds: Effects on pain and bacterial load. *Wound Repair. Regen.* 2020;28(1):118-125. <https://doi.org/10.1111/wrr.12764>
5. Jiang B., Tang R., Zheng D., Yang Y., Li Y. [et al.]. Evaluation of the Efficacy of Ultrapulsed CO2 Laser in Chronic Wounds. *Lasers Surg. Med.* 2021;53(4):443-449. <https://doi.org/10.1002/lsm.23283>
6. Milne T. J., Coates D. E., Leichter J. W., Soo L., Williams S. M. [et al.]. Periodontopathogen levels following the use of an Er:YAG laser in the treatment of chronic periodontitis. *Aust. Dent. J.* 2016;61(1):35-44. <https://doi.org/10.1111/adj.12306>
7. Alcolea J. M., Hernández E., Martínez-Carpio P. A., Vélez M., Khomchenko V. [et al.]. Treatment of Chronic Lower Extremity Ulcers with A New Er:Yag Laser Technology. *JMLL.* 2017;26(3):211-222. <https://doi.org/10.5978/jlsm.17-OR-17>
8. Schmitt L., Amann P., Marquardt Y., Heise R., Czaja K. [et al.]. Molecular effects of fractional ablative erbium: YAG laser treatment with multiple stacked pulses on standardized human three-dimensional organotypic skin models. *Lasers Med. Sci.* 2017;32(4):805-814. <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2175-0>
9. Madni T. D., Lu K., Nakonezny P. A., Imran J. B., Cunningham H. B. [et al.]. Treating Hypertrophic Burn Scar With 2940-nm Er:YAG Laser Fractional Ablation Improves Scar Characteristics as Measured by Noninvasive Technology. *J. Burn. Care Res.* 2019;40(4):416-421. <https://doi.org/10.1093/jbcr/irz056>
10. Пат. 2753955 Российская Федерация МПК G09B 23/28; A61B 17/00. Способ моделирования трофических гнойных ран в эксперименте. Зайцев А. Е.; Асанов О. Н.; Мясников Н. И. Заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова»; заявл. 26.01.2021; опубл. 24.08.2021; Бюл. № 24. [Zajcev A. E.; Asanov O. N.; Mjasnikov N. I. A method for modeling trophic purulent wounds in an experiment. Patent 2753955 Russian Federation, 26.01.2021. (In Russ.)].

Поступила 06.06.2023

Сведения об авторах:

Зайцев Александр Евгеньевич, начальник хирургического отделения;
тел.: +79181542261; e-mail: doc.zaitsev@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8728-6870>

Асанов Олег Николаевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургии с курсом онкологии и лучевой диагностики;
тел.: +79166809124; e-mail: oleg.asanov@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4741-3932>

Чекмарёва Ирина Александровна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией электронной микроскопии патологоанатомического отделения;
тел.: +79031650465; e-mail: chia236@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0126-4473>