

Е.В. Зиновьев^{1,2}, В.Н. Цыган¹, М.С. Асадулаев²,
О.В. Борисов², И.М. Лопатин², С.А. Лукьянов²,
И.В. Арцимович², М.Б. Панеях², Д.В. Костяков¹,
С.Н. Кравцов¹, В.В. Зубов², К.Ф. Османов¹

Возможности применения низкотемпературной воздушной плазмы дугового разряда атмосферного давления для лечения ожоговых ран

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург

Резюме. Приведены результаты экспериментальной оценки эффективности применения низкотемпературной воздушной плазмы дугового разряда атмосферного давления при лечении ожогов кожи III степени у мелких лабораторных животных. Установлено, что применение низкотемпературной воздушной плазмы дугового разряда атмосферного давления позволяет ускорить сроки окончательного заживления ран на 49% ($p < 0,05$), снизить частоту развития в них гнойного воспаления на 45,5% ($p < 0,01$). Выявлено положительное влияние воздушно-плазменной обработки на динамику площади рубца, которая после однократного воздействия к 35 суткам сокращается на 67% ($p < 0,01$). Анализ гистологической картины свидетельствует об ускорении формирования внеклеточного матрикса и эпителизации на фоне воздействия воздушно-плазменного потока на раны. Обработка раны низкотемпературной воздушной плазмой дугового разряда атмосферного давления после ранней хирургической некрэктомии позволяет формировать на поверхности раны так называемую нанопленку из слоя коагулированных белков раневого экссудата и клеточных фрагментов. Последняя обладает избирательной паропроницаемостью, уменьшает обсемененность ран патогенной микрофлорой, предотвращает пересыхание и, как следствие, позволяет снизить частоту развития гнойных осложнений и протяженность зон вторичного некроза. В целом воздействие потока низкотемпературной воздушной плазмы дугового разряда атмосферного давления позволяет существенно оптимизировать процессы репаративной регенерации в зоне глубокого ожога кожи на этапе подготовки к его хирургическому лечению.

Ключевые слова: глубокие ожоги кожи, низкотемпературная воздушная плазма дугового разряда атмосферного давления, плазмогенератор, восстановление кожного покрова, репаративная регенерация, комбустиология, хирургическое лечение.

Введение. Удельный вес ожогового травматизма в Российской Федерации составляет около 3–4% от всех видов травм. Ежегодно в нашей стране около 400 тысяч людей подвергается воздействию термических, электрических или химических поражающих агентов, приводящих к формированию ожогов кожи различной локализации и глубины, треть из которых госпитализируется [2].

Оказание помощи данной категории пострадавших требует мультидисциплинарного подхода, реализуемого с учетом патогенеза ожоговой болезни и особенностей течения раневого процесса, характерного для данного вида повреждений [17]. Общепринятой как в нашей стране, так и за рубежом следует признать систему активного хирургического лечения тяжелообожженных [12]. Данный подход обладает рядом недостатков: относительно высокая частота лизиса аутодермотрансплантатов; неизбежность длительного этапного лечения и частых перевязок под наркозом; высокая частота местных и общих инфекционных осложнений; длительность реабилитационного периода [1].

В арсенале хирурга, помимо традиционных способов восстановления кожного покрова пострадавших с ожогами, существует ряд методов воздействия на раны, основанных на различных физических факторах, к которым относятся ультрафиолетовое облучение, ультразвук, магнитно-лазерная терапия и др [7, 8, 11]. Они позволяют достичь антибактериального, пролиферативного эффекта, стимулировать капиллярный кровоток, улучшить микроциркуляцию и стимулировать тканевой метаболизм [5].

Одной из перспективных физических методик воздействия на раневые поверхности признается применение плазмы, которая представляет собой ионизированный газ высокой температуры, состоящий из заряженных частиц, свободных электронов, ионов, химических радикалов, инфракрасного, ультрафиолетового излучений [9]. Кроме температуры, электромагнитных полей, существенным фактором воздействия является способность компонентов плазмы повреждать структуру цитоплазматических мембран микроорганизмов и вирусов с поражением их системы жизнедеятельности [4].

В 90-х годах XX в. появились первые сообщения о результатах применения плазменного потока гелия для обработки ожогов. В частности, воздействие на раны с помощью разработанного устройства (аппарат «СУПР-М») ускоряло процесс очищения ран и стимулировало процессы их регенерации, а также повышало частоту приживления аутодермотрансплантатов [13].

В клинической практике для лечения ран и ожогов активно используется ряд плазменных генераторов как отечественного, так и зарубежного производства. К ним относятся аппараты «Плазон» и «Плазма» (РФ), «The J-Plasma System» (Соединенные Штаты Америки – США) и «Neoplas Tools» (Германия) [3, 6, 15–18, 20]. В первых двух лечебное воздействие осуществляется путем подвода к биологическим тканям газовых потоков атмосферного воздуха с оксидом азота («Плазон») и аргона («Плазма») различной температуры (от температуры окружающей среды до 4000°C). В генераторах плазмы зарубежных производителей компании «The J-Plasma System» (США) используется самый легкий из стабильных, благородных газов – гелий, который может быть ионизирован при очень низкой энергии. Гелиевый газ, проходящий через возбужденный электрод, формирует сфокусированный поток плазмы [15, 16]. Аналогом установки является аппарат компании «Neoplas Tools» (Германия), которая выпустила первый плазменный генератор, использующий аргон, сертифицированный Евросоюзом для лечения хронических ран и гнойных заболеваний кожи [20].

Перечисленные медицинские плазмогенераторы обладают рядом недостатков: ширина зоны охвата составляет от 2 до 10 мм и ограничена техническими характеристиками оборудования; для работы необходимы дополнительные комплектующие, представленные баллонами с инертными газами (аргон, гелий); при их работе невозможно обеспечить мгновенную коагуляцию микрососудов более 2–3 мм в диаметре и, как следствие, стойкий гемостаз.

Перспективным для оптимизации процессов репаративной регенерации при раневом процессе признается применение низкотемпературной воздушной плазмы дугового разряда атмосферного давления, которая обладает комплексным эффектом (антимикробный, гемостатический, пролиферативный). Рабочая температура генерируемой плазмы в разработанном нами раннее устройстве [15] колеблется в диапазоне $\pm 50^\circ\text{C}$ и не оказывает повреждающего действия на жизнеспособные ткани. Важной особенностью предложенного аппарата является тот факт, что в качестве рабочего газа при генерации плазмы используется атмосферный воздух. Также эта методика способна обеспечивать достижение устойчивого гемостаза, при этом, в отличие от электро- или аргоноплазменной коагуляции, не происходит высокотемпературного повреждения окружающих тканей. Остановка кровотечения достигается за счет ускорения агрегации тромбоцитов и формирования фибринового сгустка. Обработка раневой поверхности плазменным факе-

лом не только её стерилизует, но и предохраняет от микробного загрязнения из окружающей среды за счет формируемой нанопленки из тончайшего слоя коагулированного белка раневого экссудата.

Материалы и методы. Экспериментальная работа выполнена на 44 самцах крыс линии Wistar-Kyoto массой 230–250 гр. Общая продолжительность эксперимента составила 40 суток. Все манипуляции с животными осуществляли под ингаляционным (эфирным) наркозом в асептических условиях.

Ожоги кожи III степени воспроизводили по авторской методике (рационализаторское предложение № 14287/1 от 19.01.2016 г. Военно-медицинская академия). Спустя 60 мин после его воспроизведения выполняли некрэктомию до собственной фасции с последующей обработкой низкотемпературной воздушной плазмой дугового разряда атмосферного давления и аппликацией средств местного лечения. Расстояние между источником пучка и раневой поверхностью составляло 1,5–2 см (рис. 1).

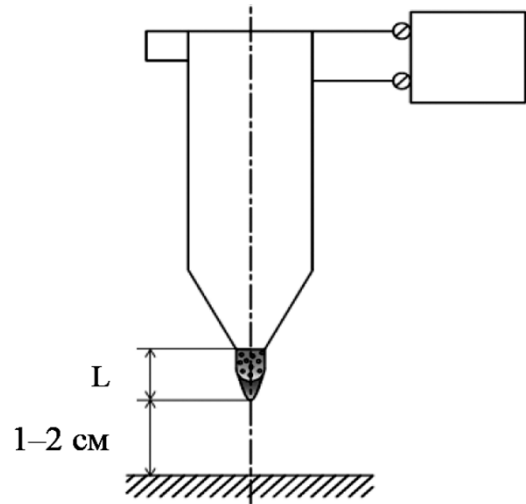


Рис. 1. Схема работы пучка низкотемпературной воздушной плазмы дугового разряда атмосферного давления

Генерацию плазмы осуществляли разработанным нами оригинальным устройством [15] (рис. 2). В настоящее время это единственный известный прибор с таким принципом работы. Методика может быть признана уникальной. Разработанный плазменный генератор с диаметром факела 100 мм позволяет совместить в себе непосредственное воздействие вещества плазмы на поверхность с терапевтическим эффектом окиси азота.

Все животные были разделены на 4 группы (по 11 особей) с учетом выбора методики их местного лечения: 1-я группа (контроль) – без лечения, 2-я группа – влажно-высыхающие повязки с растворами антисептиков, 3-я группа – повязки с многокомпонентной антибактериальной мазью левомеколь, 4-я группа – обработка послеоперационных ран низкотемпера-

турной воздушной плазмой дугового разряда атмосферного давления, формирование нанослой пленки.

Оценку эффективности анализируемых методик лечения ран проводили ежедневно. Выполняли осмотр ран, отмечали характер отделяемого, наличие и вид грануляций, фиксировали сроки отторжения струпа и заживления раневых поверхностей. Планиметрически (методика Л.Н. Поповой [10]) определяли площадь раны и вычисляли индекс заживления по формуле:

$$\frac{(S - S_n) \times 100}{S \times T}$$

где S – площадь раны при предыдущем измерении, мм²; S_n – площадь раны при данном измерении, мм²; T – интервал между измерениями, сут.

Отбор биоптатов для гистологического исследования осуществляли на 2-е, 9-е, 15-е, 21-е, 35-е, 40-е сутки лечения. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином с последующим их исследованием с помощью светооптической микроскопии.

Обработка полученных результатов проводилась в соответствии с общепринятыми методами вариационной статистики. Критерием достоверности считали величину p < 0,05.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что исследуемые средства местного лечения обладали различным ранозаживляющим эффектом. Результаты сравнительной оценки сроков окончательного заживления экспериментальных ран в зависимости от методики их лечения приведены в таблице 1.

Таблица 1

Планиметрическая оценка процессов заживления ран в исследуемых группах животных

Группа	Срок заживления, сутки
1-я	35±2,5
2-я	28±1,7 *
3-я	24±2,1 *
4-я	18±1,2 **

Примечание: * – различия по сравнению с 1-й группой; ** – по сравнению с 1-й, 2-й и 3-й группами, p < 0,05.

Установлено, что при обработке ожоговых ран низкотемпературной воздушной плазмой дугового разряда атмосферного давления окончательное их заживление наступает на 18-е сутки, что на 49% быстрее (p < 0,05) по сравнению с группой животных, лечение которых не проводилось. При использовании повязок с растворами антисептиков и мазью левомеколь контракция дефекта отмечена на 28-е и 24-е сутки соответственно. В 1-й группе животных раны самостоятельно заживали лишь к 35-м суткам.

Ожоговые раны облигатно контаминированы широким спектром патогенной микрофлоры, вызывающей выраженную воспалительную реакцию и, как следствие, осложненное течение раневого процесса.

За время эксперимента было зафиксировано 9 случаев развития гнойного воспаления различной степени выраженности. Наибольшая частота осложнений течения раневого процесса (54,5%) отмечена в 1-й группе. Во 2-й и 3-й группах аналогичный показатель составил 27,2 и 18,2% (p < 0,05) соответственно. В 4-й группе был зафиксирован единственный эпизод развития гнойного воспаления (табл. 2).

Таблица 2

Частота гнойных осложнений раневого процесса в исследуемых группах

Группа	Частота инфекционных осложнений, %
1-я	54,5±1,8
2-я	27,2±2,3*
3-я	18,2±1,2**
4-я	9%***

Примечание: * – различия по сравнению с 1-й группой; ** – по сравнению с 1-й и 2-й группами; *** – по сравнению с 1-й, 2-й и 3-й группами, p < 0,05.

Заживление экспериментальных ран у животных завершалось за счет их контракции и сопровождалось формированием рубца, сравнительный анализ площади которого к исходу 35 суток представлен в таблице 3.

Таблица 3

Площадь рубца, сформировавшегося после заживления ран, в исследуемых группах

Группа	Площадь рубца, см ²
1-я	12±1,4
2-я	9 ±0,8
3-я	7±1,1*
4-я	4±0,5**

Примечание: * – различия по сравнению с 1-й группой; ** – по сравнению с 1-й, 2-й и 3-й группами, p < 0,05.

Данные таблицы 3 позволяют заключить, что минимальная площадь рубца после окончательного заживления экспериментальных ран, зафиксированная в группе животных, лечение которых проводили с использованием низкотемпературной воздушной плазмы дугового разряда атмосферного давления, составила лишь 4 см², что на 67% меньше (p < 0,05), чем в группе животных без лечения. Применение влажно-высыхающих повязок с растворами антисептиков позволило снизить площадь рубца по сравнению с контролем на 25% (p < 0,05), а повязок с многокомпонентной мазью левомеколь на 42% (p < 0,05). В контрольной группе, где лечение ран не проводилось, сформировался рубец площадью 12 см².

При гистологическом исследовании биоптатов ран установлено, что у животных 1-й группы на 15-е сутки в области экспериментальной раны определяется круп-

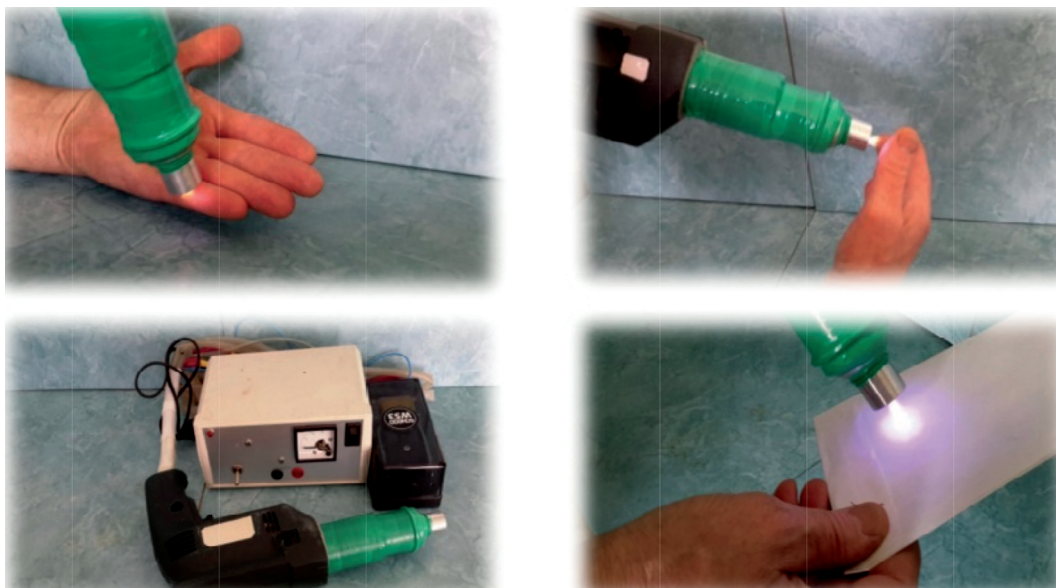


Рис. 2. Внешний вид разработанного устройства генерации плазмы

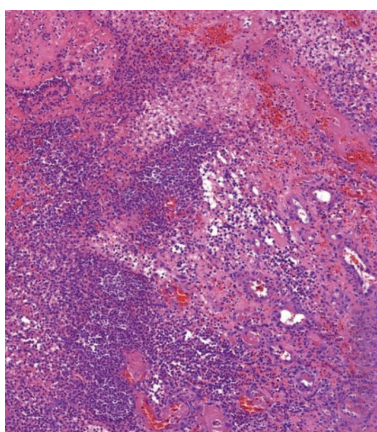


Рис. 3. Кожа крысы 1-й группы на 15-е сутки после ожога III степени. Видна массивная инфильтрация нейтрофильными лейкоцитами, формирование зоны демаркации, вторичного некроза. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 100$

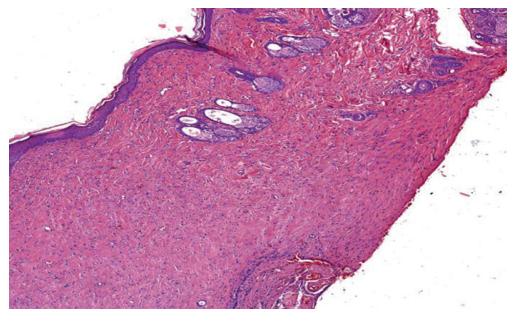


Рис. 5. Кожа крысы 4-й группы на 9-е сутки после ожога III степени. Видна новообразованная грануляционная ткань с незначительной лейкоцитарной инфильтрацией и очаги краевой эпителизации. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 100$

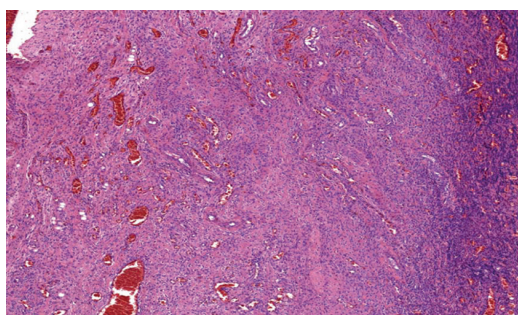


Рис. 4. Кожа крысы 4-й группы на 3 сутки после ожога III степени. Видны участки белковой нанопленки и дермы с умеренной лейкоцитарной инфильтрацией. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 100$

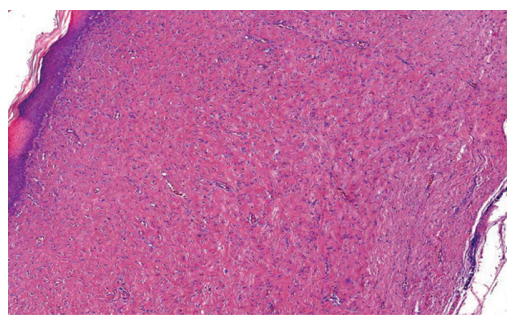


Рис. 6. Кожа крысы 4-й группы на 15-е сутки после ожога III степени. Видна созревшая грануляционная ткань с активной краевой эпителизацией. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 100$

ный раневой дефект с обильным гнойным экссудатом на его поверхности. Субэпителиально визуализируется волокнистая ткань дермы без деления на сосочковый и сетчатый слои, с массивными кровоизлияниями и очаговыми лимфогистиоцитарными инфильтратами с примесью нейтрофильных лейкоцитов (рис. 3).

Применение влажно-высыхающих повязок с растворами антисептиков и мази левомеколь не позволило существенно оптимизировать течение процессов репаративной регенерации. При использовании первых на 15-е сутки рана была представлена крупным дефектом, на дне которого расположена волокнистая соединительная ткань с диффузной, слабо выраженной лимфогистиоцитарной инфильтрацией и очаговой примесью нейтрофильных лейкоцитов. Деление на сосочковый и сетчатый слои дермы не наблюдается. Определяется полнокровие множественных капилляров, мелкоочаговые кровоизлияния, зоны вторичного некроза.

На фоне применения мази левомеколь на 15-е сутки в области раны отмечено наличие отека волокнутой соединительной ткани с диффузной лимфогистиоцитарной инфильтрацией и примесью нейтрофильных лейкоцитов. Местами наблюдаются мелкие очаги отложения гемосидерина и вторичного некроза. На поверхности препарата определяется гнойный экссудат.

Наибольшая выраженность ранних процессов репаративной регенерации отмечена в группе животных, раны у которых обрабатывали воздушным плазменным потоком. При гистологическом анализе биоптатов, взятых на 3-и сутки, установлено, что раневая поверхность представлена тонкой полоской сформированной пленки толщиной 50-70 нм из коагулированного белка раневого экссудата (рис. 4). На дне расположена дерма с нечеткой границей и умеренно выраженным отеком. Сохраняется диффузная, умеренно выраженная лимфоцитарная и нейтрофильная воспалительная инфильтрация.

На 9-е сутки нанопленка на поверхности раны практически полностью оторглась. Дно дефекта представлено новообразованными грануляциями. Отек выражен незначительно. В очаге сохраняется диффузная, слабовыраженная лимфоцитарная и нейтрофильная воспалительная инфильтрация. Представлены очаги эпителизации с краев раны в виде тонкого клина с дифференцировкой эпителия (рис. 5).

К 15-м суткам нанопленка на поверхности раны полностью оторглась. По периферии раны визуализируется эпителиальный вал, активно распространяющийся на созревшую грануляционную ткань. Отека нет. Сохраняется слабовыраженная диффузная, лимфоцитарная и нейтрофильная воспалительная инфильтрация (рис. 6).

Таким образом, применение низкотемпературной воздушной плазмы дугового разряда атмосферного давления по сравнению с традиционными методиками ведения ожоговых ран позволяет оптимизировать течение раневого процесса и, как следствие, уменьшить

сроки заживления и площадь рубца. Формируемая в ходе обработки плазменным потоком на раневой поверхности тонкая биологическая пленка из нанослоя коагулированных белков раневого экссудата белка является эффективным барьером, так называемым «протезом эпидермиса», предохраняющим рану от пересыхания и вторичной контаминации.

Заключение. Установлено, что применение низкотемпературной воздушной плазмы дугового разряда атмосферного давления при лечении пострадавших от ожогов является перспективной методикой, позволяющей оптимизировать раневой процесс в зоне дефектов кожи, в том числе и глубокого ожога. Применение данной методики позволяет ускорить процесс регенерации ран на 49%, а также уменьшить площадь формируемого рубца на 67% ($p < 0,05$). Обработка раны низкотемпературной воздушной плазмой дугового разряда атмосферного давления после ранней хирургической некрэктомии позволяет генерировать на поверхности раны так называемую нанопленку толщиной 50–70 нм из слоя коагулированных белков раневого экссудата и клеточных фрагментов, непроницаемую для микроорганизмов, обладающую избирательной паро- и влагопроницаемостью. Обработка плазмой и формирование пленки уменьшает обсемененность ран патогенной микрофлорой, предотвращает пересыхание и, как следствие, позволяет снизить частоту развития гнойных осложнений и протяженность зон вторичного некроза.

Литература

1. Алексеев, А.А. Современные методы лечения ожогов и ожоговой болезни / А.А. Алексеев // Комбустиология. – 1999. – № 1. – С. 1–9.
2. Анощенко, Ю.Д. Медико-социальная характеристика больных с ожоговой травмой / Ю.Д. Анощенко // Комбустиология. – 1993. – № 8. – С. 16–17.
3. Братийчук, А.Н. Применение аппарата «Плазон» при лечении больных с гнойной хирургической инфекцией в поликлинике / А.Н. Братийчук [и др.] // Воен.-мед. жур. – 2009. – № 3. – С. 72–73.
4. Васильева, Т.М. Плазмохимические технологии в биологии и медицине: современное состояние проблемы / Т.М. Васильева // Тонкие химические технологии. – 2015. – Т. 10, № 2. – С. 6–9.
5. Герасимова, Л.И. Лазеры в хирургии и терапии термических ожогов: руководство для врачей / Л.И. Герасимова. – М.: Медицина, 2000. – 224 с.
6. Ермаков, А.М. Активация регенерации планарий низкотемпературной аргоновой плазмой, генерируемой плазменным скальпелем / А.М. Ермаков [и др.] // Биофизика. – 2012. – № 13. – С. 547–555.
7. Знаменский, Г.М. Первый опыт применения аппарата «Плазон» в лечении ожогов и ран / Г.М. Знаменский, Ю.Р. Скворцов // II съезд комбустиологов России: сб. науч. трудов. – М., 2008. – С. 225.
8. Крылов, К.М. Современные возможности местного лечения ожогов / К.М. Крылов [и др.] // Амбулаторная хирургия. Стационарзамещающие технологии. – 2010. – № 1. – С. 30–35.
9. Подойницына, М.Г. Применение магнитоплазменной терапии для подготовки ожоговых ран к дерматомной пластике / М.Г. Подойницына [и др.] // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины: материалы

- Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 60-летию Читинской гос. мед. академии. – Чита, 2013. – С. 137–138.
10. Попова, Л.Н. Как изменяются границы вновь образующегося эпидермиса при заживлении ран: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л.Н. Попова. – М., 1942. – 16 с.
 11. Сергеева, Е.Н. Применение монохромного некогерентного светодиодного излучения в комплексном лечении ожогов кожи у детей: дис. ... канд. мед. наук / Е.Н. Сергеева. – СПб., 2008. – 142 с.
 12. Филимонов, К.А. Совершенствование местного лечения ран у больных с локальными ожогами: дис. ... канд. мед. наук / К.А. Филимонов. – Самара, 2013. – 144 с.
 13. Яськов, И.М. Применение плазменного потока гелия для заживления глубоких ожоговых ран / И.М. Яськов [и др.] // Мед. техника. – 2010. – № 2. – С. 43–46.
 14. Hyakusoku, H. Color atlas of burn reconstructive surgery / H. Hyakusoku [et al.]. – Berlin: Springer Science & Business Media, 2010. – 499 p.
 15. Patent 054534 Switzerland, PCT/IB2017/054534 Tissue tolerable plasma generator and method for the creation of protective film from the wound substrate / O.V. Borisov, 26. July 2017.
 16. Pedroso, J. Comparative thermal effects of j-plasma, monopolar, argon and laser electrosurgery in a porcine tissue model / J. Pedroso [et al.] // Journal of Minimally Invasive Gynecology. – 2014. – Vol. 21, № 6. – P. 59.
 17. Reuter, S. Detection of ozone in a MHz argon plasma bullet jet / S. Reuter // Plasma Sources Science and Technology. – 2012. – Vol. 21, № 3. – P. 45–50.
 18. Stolz, W. Low-temperature argon plasma for sterilization of chronic wounds: from bench to bedside / W. Stolz [et al.] // Conf. on Plasma Med. – Corpus Christi, 2007. – P. 134.
 19. Tyler, M.P. Dermal cellular inflammation in burns. An insight into the function of dermal microvascular anatomy / M.P. Tyler // Burns. – 2001. – Vol. 27, № 5. – P. 433–438.
 20. Weltmann, K.D. Atmospheric pressure plasma jet for medical therapy: plasma parameters and risk estimation / K.D. Weltmann // Contributions to plasma physics. – 2009. – Vol. 49, № 9. – P. 631–640.

E.V. Zinovyev, V.N. Tsygan, M.S. Asadulayev, O.V. Borisov, I.M. Lopatin, S.A. Lukyanov, I.V. Artsimovich, M.B. Paneyakh, D.V. Kostyakov, S.N. Kravtsov, V.V. Zubov, K.F. Osmanov

Possibilities of use of arc-type discharge low-temperature air plasma of atmospheric pressure for burn wound treatment

Abstract. Results of experimental assessment of efficiency of use of low-temperature air plasma of the arc category of atmospheric pressure at treatment of burns of skin of the III degree in small laboratory animals are given. It is established that use of low-temperature air plasma of the arc-type discharge of atmospheric pressure allows to accelerate terms of final healing of wounds for 49% ($p < 0,05$), to reduce development frequency in them purulent inflammation by 45,5% ($p < 0,01$). Positive influence of air and plasma processing on dynamics of the area of a hem which after single influence by 35 days is reduced for 67% is revealed ($p < 0,01$). The analysis of a histologic picture confirms acceleration of formation of an extracellular matrix and epitelization against the background of impact of an air and plasma stream on wounds. Processing of a wound of low-temperature air plasma of the arc category of atmospheric pressure after an early surgical escharotomy allows to form on a wound surface a so-called nanofilm of a layer the coagulated proteins of wound exudate and cellular fragments which has selective vapor permeability, reduces an rate of wounds pathogenic infection, prevents drying and as a result, allows to reduce the frequency of development of purulent complications and extent of zones of a secondary necrosis. Influence of a stream of low-temperature air plasma of the arc-type discharge of atmospheric pressure allows to optimize significantly processes of reparative regeneration in a zone of a deep burn of skin at a stage of preparation for their surgical treatment.

Key words: deep skin burns, low-temperature air plasma of the arc category of atmospheric pressure, plazma generation, restoration of an integument, reparative regeneration, combustiology, surgical treatment.

Контактный телефон: + 7-931-369-98-50; e-mail: forlopatin@yandex.ru