Меламед В.Д.¹, Валентюкевич А.Л.¹, Островский А.А.²

¹ Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

² Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Беларусь

Melamed V.¹, Valentyukevich A.¹, Astrowski A.²

¹ Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

² Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

Применение раневых покрытий с нановолокнами хитозана после ранней некрэктомии при лечении экспериментальных отморожений (морфогистологические характеристики)

The Use of Wound Coatings with Nanofibers of Chitosan after Early Necrectomy in the Treatment of Experimental Frostbites (Morphological Characteristics)

Резюме

Введение. Проблема холодовой травмы заключается в отсутствии общепризнанной тактики лечения, что приводит к неудовлетворительным результатам и высокой частоте инвалидизации. Это обуславливает необходимость изыскания более эффективных методов лечения.

Цель. В эксперименте на лабораторных животных изучить эффективность раневых покрытий с нановолокнами хитозана в лечении глубоких отморожений в сочетании с ранней некрэктомией.

Материалы и методы. У 45 лабораторных крыс моделировали глубокие контактные отморожения при помощи разработанного оригинального устройства. На 3-и сутки выполнялась некрэктомия в области отморожения. Для дальнейшего лечения использовали раневые покрытия с нановолокнами хитозана хитомед-ранозаживляющее, мазь меколь и марлевую салфетку с последующей морфогистологической оценкой динамики заживления холодовых ран.

Результаты. Представлена морфологическая и гистологическая аргументация целесообразности использования раневых покрытий с нановолокнами хитозана при лечении глубоких отморожений в сравнении с традиционными методами при выполнении ранней некрэктомии в зоне холодового воздействия.

Заключение. Установлено, что раневые покрытия с нановолокнами хитозана, обладая выраженными регенераторными свойствами, способствуют более быстрой эпителизации холодовых ран. Уже на 7-е сутки эксперимента выявлены статистически значимые отличия скорости заживления в опытной группе в сравнении с контрольными. Ранняя некрэктомия на 3-и сутки после моделирования отморожений, по всей видимости, является преждевременной из-за

недостаточного ограничения раневого процесса. Струп на начальных этапах выступает в роли биологической повязки, его раннее удаление приводит к замедлению регенерации раны.

Ключевые слова: эксперимент, отморожения, крысы, раневые покрытия, некрэктомия.

Abstract

Introduction. The problem of cold injury is the lack of a generally accepted treatment strategy, which leads to unsatisfactory results and a high incidence of disability. This necessitates finding more effective treatments.

Purpose. In experiment on laboratory animals, to study the effectiveness of wound dressings with chitosan nanofibers in treatment of deep frostbite in combination with early necrectomy.

Materials and methods. Deep contact frostbite was simulated in 45 laboratory rats using the developed original device. On the 3rd day, necrectomy was performed in the area of frostbite. For subsequent treatment, wound dressings with chitosan nanofibers hitomed-wound-healing, mekol ointment and a gauze pad were used, followed by morphological and histological assessment of the dynamics of healing of cold wounds.

Results. The morphological and histological argumentation of the expediency of using wound dressings with chitosan nanofibers in the treatment of deep frostbite in comparison with traditional methods when performing early necrectomy in zone of cold exposure was presented.

Conclusion. It was found that wound dressings with chitosan nanofibers, possessing pronounced regenerative properties, promote faster epitelisation of cold wounds. On the 7th day of the experiment, statistically significant differences in the rate of healing in the experimental group were revealed in comparison with the control ones. Early necrectomy on the 3rd day after modeling frostbite is apparently premature due to insufficient delimitation of the wound process. At the initial stages, the scab acts as a biological dressing, its early removal leads to a slowdown in wound regeneration.

Keywords: experiment, frostbite, rats, wound dressings, necrectomy.

■ ВВЕДЕНИЕ

Проблема лечения отморожений по-прежнему актуальна ввиду неудовлетворительных результатов (15–50% клинических наблюдений) [1]. В структуре травматизма криотравма составляет от 1–2% в регионах с умеренным климатом до 6–10% в северных областях [2].

Многообразие патофизиологических механизмов отморожения, отсутствие признанной, а порой и противоречивой тактики оперативного и консервативного лечения пациентов с глубокими отморожениями обуславливает развитие тяжелых осложнений и инвалидизации пациентов преимущественно трудоспособного возраста [3, 4]. Сложность лечения криотравмы обусловлена также тем, что ее клиническое течение трудно прогнозировать [5, 6].

Одним из проблемных аспектов хирургического лечения пострадавших с глубокими отморожениями является вопрос об оптимальных сроках оперативного удаления омертвевших тканей [7]. Ряд исследователей аргументируют целесообразность выполнения ранней некрэктомии (РН) в первые трое суток при верификации диагноза минимизацией риска развития инфекционных осложнений и нарушений гомеостаза, ускорением репаративных процессов [8]. В послеоперационном

периоде большое значение имеет местное воздействие на рану, во многом определяющее результат лечения при обоснованном применении тех или иных методов. Медикаментозные средства для местного лечения пациентов с холодовой травмой постоянно совершенствуются, поэтому разработка и использование инновационных раневых покрытий (РП) остается актуальной проблемой современной комбустологии [9].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте на лабораторных животных изучить эффективность раневых покрытий с нановолокнами хитозана в лечении глубоких отморожений в сочетании с ранней некрэктомией.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 45 белых беспородных лабораторных крысах в возрасте 5–7 месяцев с массой тела 210 ± 27 грамм в условиях операционной вивария УО «Гродненский государственный медицинский университет». Работа с животными проведена с соблюдением «Правил и норм гуманного обращения с биологическими объектами исследований» УО «Гродненский государственный медицинский университет» (протокол № 1 от 30.01.2018), а также в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986). Все манипуляции проводили под эфирным наркозом по закрытому контуру.

Подопытные животные были разделены на три группы по 15 особей. На депилированных участках кожи в межлопаточной области выполнялось моделирование глубокого контактного отморожения посредством разработанного «Устройства для моделирования отморожений различной степени тяжести» при 30-секундной экспозиции [10]. По завершении моделирования криотравмы вокруг зоны повреждения фиксировалась предохранительная камера, которая предотвращала внешнее воздействие на рану и исключала ее контракцию.

Всем крысам производили РН на 3-и сутки после моделирования холодовой травмы. На данном временном этапе струп еще не был сформирован, операция выполнялась острым путем при помощи скальпеля. Первой группе крыс (контрольная группа 1) на раневую поверхность укладывали стерильную марлевую салфетку, которую фиксировали к стенкам предохранительной камеры. Второй группе животных (контрольная группа 2) на рану наносили, как часто применяемую в клинической практике, мазь меколь (производство «Борисовский завод медицинских препаратов», Республика Беларусь), сверху укладывая марлю, и подшивали к камере. В третьей (опытной) группе в качестве перевязочного материала использовали разработанные нами РП хитомед-ранозаживляющее (регистрационное удостоверение № ИМ-7.104278, ТУ BY 600125053/075-2016, регистрационный номер Мн-7.118864-1510). Они состояли из хитозановых нановолокон, полученных по технологии Nanospider, нанесенных на подкладочный материал. РП укладывали на зону криовоздействия с аналогичной фиксацией марли поверх покрытия [11].

Всем группам животных в последующем проводили ежедневные перевязки до эпидермизации ран. Документирование этапов заживления осуществляли фотографированием аппаратом модели Canon EOS 700D в режиме макросъемки.

Основными критериями эффективности лечения считали скорость уменьшения площади раневой поверхности и полное заживление дефекта. Площадь раны определяли посредством обработки фотоматериалов в лицензионной компьютерной программе ImageWarp Pro.

Для статистического анализа использовалась программа STATISTICA 10 [12] и среда R 4.0 [13] с пакетами расширений NSM3 [14] и RMCMRplus [15]. В качестве описательных статистик для отдельного показателя использовались минимум, максимум; среднее значение и его ошибка, выраженные в виде « $M \pm m$ »; медиана и квартили, выраженные в виде « $Me (Q1; Q3)$ ». Для выявления различий между выборками по уровню показателя использовался непараметрический критерий Краскела – Уоллиса [16]. Пороговым значением уровня статистической значимости было принято значение 0,05.

Для гистологических исследований иссекали участки ран и прилежащих тканей с последующей подготовкой гистологических препаратов. Оценивали состояние раны и покрывающего ее новообразованного эпителия, состояние подлежащей соединительной ткани и выраженность перифокальных воспалительных изменений.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всем группам крыс воспроизведены равновеликие глубокие отморожения, что подтверждено гистологически: микроскопически роговой слой эпидермиса был разрыхлен, повсеместно отслоен от эпителия за счет отека; цитоплазма эпителиоцитов вакуолизирована; ядра клеток базального и зернистого слоев местами с признаками кариопикноза. Дерма, подкожная клетчатка и подлежащая мышечная ткань с признаками отека, и преимущественно в клетчатке определялась слабо выраженная очаговая нейтрофильно-клеточная инфильтрация. Со стороны сосудов дермы отмечались явления полнокровия и стаза (рис. 1).

Через 24 часа после моделирования определялся диффузный коагуляционный некроз эпидермиса и подлежащей дермы с наличием перифокальной лейкоцитарной инфильтрации и отека. В подкожной клетчатке и мышечной ткани наблюдался диффузный некроз. В венозных сосудах имели место паретическое расширение, неравномерно выраженное полнокровие и стаз (рис. 2), что соответствует глубокому отморожению.

Площадь нанесенного повреждения составляла $7,58 \pm 0,02\%$ от общей площади поверхности тела лабораторного животного и рассчитывалась по формуле Мее – Рубнера в модификации Lee [17]. После моделирования холодовой травмы выполняли РН именно на 3-и сутки ввиду того, что ряд исследователей считают именно эти сроки наиболее эффективными в сравнении с более поздними вмешательствами [18]. Макроскопически во всех группах определялись четкие границы холодового повреждения в виде бурого окраса кожных покровов с наличием белесоватой перифокальной зоны. РН выполнялась проксимальнее перифокальной области, так как иссечение условно жизнеспособных

Рис. 1. Гистологический срез непосредственно после криовоздействия (эпидермис частично отслоен, с дистрофическими и некробиотическими изменениями (желтая стрелка); выраженный отек и очаговая лейкоцитарная инфильтрация дермы (красная стрелка). Окр. гематоксилином и эозином. $\times 100$

Fig. 1. Histological section immediately after cryodamage (the epidermis is partially detached, with dystrophic and necrobiotic changes (yellow arrow); pronounced edema and focal leukocytic infiltration of the dermis (red arrow). Hematoxylin and eosin stain. $\times 100$

Рис. 2. Зона отморожения через 24 часа: некроз жировой (фиолетовая стрелка) и мышечной ткани (красная стрелка) с наличием умеренно выраженной диффузной лейкоцитарной инфильтрации (желтая стрелка). Окр. гематоксилином и эозином. $\times 100$

Fig. 2. Zone of frostbite 24 hours after modeling: necrosis of adipose (purple arrow) and muscle tissue (red arrow) with the presence of moderately pronounced diffuse leukocyte infiltration (yellow arrow). Hematoxylin and eosin stain. $\times 100$

тканей считается неоправданным и приводит к неудовлетворительным результатам лечения [19]. Необходимо отметить, что хирургические манипуляции сопровождались кровотечением ввиду отсутствия отчетливой демаркационной зоны криодеструкции. Дно раны выполняла отечная, легко кровоточащая мышечная ткань, но гнойного отделяемого не было. Через двое суток после иссечения струпа наблюдалось незначительное увеличение площади раневой поверхности во всех группах (в среднем на 4,5%). Последующая динамика заживления ран представлена на рис. 3.

Отличий в заживлении ран между группами на протяжении первых суток после РН не выявлено. К 7-м суткам наблюдалось ускорение репаративных процессов в группах 2 и 3 в сравнении с группой 1 (рис. 3), что подтверждается статистически значимыми различиями ($p < 0,05^*$) между представленными выборками.

Микроскопически на 7-е сутки у животных группы 1 (марля) в дне раны эпидермис отсутствовал, определялся тканевой детрит с признаками воспалительной инфильтрации. Под детритом располагалась неспецифическая грануляционная ткань в виде широкой полосы с сосудами капиллярно-синусоидного типа и клетками (преимущественно гистиоцитами и фибробластами). В подлежащей подкожной жировой клетчатке отмечалась резко выраженная диффузная воспалительная инфильтрация, представленная нейтрофилами, лимфоцитами, макрофагами и фибробластами (рис. 4).

Рис. 3. Динамика уменьшения площади раневой поверхности области отморожения (группа 1 – марля, группа 2 – меколь, группа 3 – РП)

Fig. 3. Dynamics of reducing the area of the wound surface of the frostbite area (group 1 – gauze, group 2 – mekol, group 3 – RP)

Рис. 4. Рана в зоне криповреждения (группа 1, 7-е сутки): тканевой детрит с лейкоцитарной инфильтрацией (желтые стрелки); неспецифическая грануляционная ткань с обилием капилляров и синусоидов (красные стрелки); жировая ткань с воспалительной инфильтрацией (фиолетовые стрелки). Окр. гематоксилином и эозином. $\times 100$

Fig. 4. Wound in the zone of cryoinjury (group 1, 7th day): tissue detritus with leukocyte infiltration (yellow arrows); nonspecific granulation tissue with an abundance of capillaries and sinusoids (red arrows); adipose tissue with inflammatory infiltration (purple arrows). Hematoxylin and eosin stain. $\times 100$

У животных группы 2 (меколь) площадь в дне раны, занимаемой детритом и лейкоцитарной инфильтрацией, несколько меньше по сравнению с группой 1. Под детритом и в подкожно-жировой клетчатке изменения были аналогичны описаниям группы 1 (рис. 5).

Рис. 5. Зона отморожения (группа 2, 7-е сутки): тканевой детрит с лейкоцитарной инфильтрацией в виде полоски (желтые стрелки); неспецифическая грануляционная ткань с обилием капилляров (красные стрелки); жировая ткань с воспалительной инфильтрацией (фиолетовые стрелки). Окр. гематоксилином и эозином. $\times 100$

Fig. 5. Zone of frostbite (group 2, 7th day): tissue detritus with leukocyte infiltration in the form of a strip (yellow arrows); nonspecific granulation tissue with an abundance of capillaries (red arrows); adipose tissue with inflammatory infiltration (purple arrows). Hematoxylin and eosin stain. $\times 100$

У крыс группы 3 (РП с нановолокнами хитозана) к 7-м суткам рана частично очистилась, ее дном являлась неспецифическая грануляционная ткань. Локально определялся тканевой детрит, под которым была расположена неспецифическая грануляционная ткань в виде широкой полосы с васкуляризацией капиллярно-синусоидного типа. В подлежащей подкожной жировой клетчатке отмечалась диффузная воспалительная инфильтрация, представленная преимущественно гистиоцитами и фибробластами (рис. 6).

Рис. 6. Область криодеструкции (группа 3, 7-е сутки): а – тканевой детрит с лейкоцитарной инфильтрацией в виде полоски (желтые стрелки); участок раны, очищенной от детрита (зеленая стрелка); неспецифическая грануляционная ткань с обилием капилляров (красные стрелки), жировая ткань с воспалительной инфильтрацией (фиолетовые стрелки). Окр. гематоксилином и эозином. $\times 100$

Fig. 6. Area of cryodestruction (group 3, 7th day): а – tissue detritus with leukocyte infiltration in the form of a strip (yellow arrows); the area of the wound cleared of detritus (green arrow); nonspecific granulation tissue with an abundance of capillaries (red arrows), adipose tissue with inflammatory infiltration (purple arrows). Hematoxylin and eosin stain. $\times 100$

К 11-м суткам достоверные различия определялись уже между всеми анализируемыми группами. При этом максимальная разница значений площадей ран ($p<0,05^{**}$) наблюдалась между 1-й и 3-й группами (табл. 1, 2).

Микроскопически к 11-м суткам в группе 1 рана очистилась на большем протяжении, локально – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией. Дно раны представлено вновь образованной рыхлой соединительной

Таблица 1

Описательные статистики и результаты статистических тестов на временном срезе «11-е сутки» в % от исходной площади повреждения

Table 1
Descriptive statistics and results of statistical tests on the "11th day" time slice as a % of the original damage area

Группа	1	2	3
Объем	5	5	5
Min	4,8	64,7	59,4
Max	6,9	65,8	62,5
$M\pm m$	$75,82\pm 0,44$	$65,35\pm 0,21$	$60,54\pm 0,53$
Доверительный интервал для среднего	$75,8\pm 0,9$	$65,4\pm 0,4$	$60,5\pm 1$
Доверительный интервал для медианы	$75,4\pm 1$	$65,4\pm 0,5$	$60,4\pm 1,6$
Me (Q1; Q3)	75,4 (75,2; 76,8)	65,4 (65; 65,8)	60,44 (60; 60,5)
Тест Краскела – Уоллиса	$p<0,05^{**}$		
Различия между группами	Группа 1 – группа 2: $p<0,05^*$ Группа 2 – группа 3: $p<0,05^*$ Группа 1 – группа 3: $p<0,05^{**}$		

Примечания: $p<0,05^*$ соответствует значению p от 0,02 до 0,05; $p<0,05^{**}$ соответствует значению $p<0,02$.

Таблица 2

Описательные статистики и результаты статистических тестов на временном срезе «11-е сутки» в мм^2

Table 2
Descriptive statistics and results of statistical tests on the "11th day" time slice in mm^2

Группа	1	2	3
Объем	5	5	5
Min	236,1	204	187,3
Max	243	207,8	196,9
$M\pm m$	$238,96\pm 1,51$	$206,28\pm 0,71$	$190,93\pm 1,6$
Доверительный интервал для среднего	239 ± 3	$206,3\pm 1,4$	$190,9\pm 3,1$
Доверительный интервал для медианы	$237,3\pm 3,5$	$206,4\pm 1,9$	$190,3\pm 4,8$
Me (Q1; Q3)	237,3 (236,2; 242,2)	206,4 (205,6; 207,6)	190,3 (189,5; 190,7)
Тест Краскела – Уоллиса	$p<0,05^{**}$		
Различия между группами	Группа 1 – группа 2: $p<0,05^*$ Группа 2 – группа 3: $p<0,05^*$ Группа 1 – группа 3: $p<0,05^{**}$		

Примечания: $p<0,05^*$ соответствует значению p от 0,02 до 0,05; $p<0,05^{**}$ соответствует значению $p<0,02$.

тканью с наличием большого количества неравномерно расширенных сосудов и скудной лимфоидно-гистиоцитарной инфильтрацией. В подкожной жировой клетчатке имеет место отек, слабо выраженная преимущественно макрофагальная инфильтрация (рис. 7).

На 11-е сутки в гистологических срезах группы 2 детрит в зоне отморожения не определялся, имела место очаговая лейкоцитарная инфильтрация. Дно раны заполнено вновь образованной рыхлой соединительной тканью с признаками инфильтрации. В подкожной жировой

Рис. 7. Область криовоздействия (группа 1, 11-е сутки): очаг тканевого детрита с лейкоцитарной инфильтрацией (желтые стрелки); рыхлая соединительная ткань в дне раны (красные стрелки); жировая ткань с отеком и макрофагальной инфильтрацией (фиолетовые стрелки). Окр. гематоксилином и эозином. $\times 100$ (a, b), $\times 200$ (b)

Fig. 7. Area of cryoinjury (group 1, day 11): focus of tissue detritus with leukocyte infiltration (yellow arrows); loose connective tissue in the bottom of the wound (red arrows); adipose tissue with edema and macrophage infiltration (purple arrows). Hematoxylin and eosin stain. $\times 100$ (a, b), $\times 200$ (b)

Рис. 8. Зона контактного отморожения (группа 2, 11-е сутки): в дне раны тканевой детрит отсутствует, определяется скудная лейкоцитарная инфильтрация (желтые стрелки), пролиферация эпителия в крае раны и наползание его на раневую поверхность (зеленая стрелка); рыхлая соединительная ткань, богатая расширенными сосудами в глубине раны (красные стрелки). Окр. гематоксилином и эозином. $\times 100$

Fig. 8. Zone of contact frostbite (group 2, 11th day): there is no tissue detritus in the bottom of the wound, scanty leukocyte infiltration (yellow arrows), proliferation of the epithelium in the edge of the wound and its crawling onto the wound surface (green arrow); loose connective tissue rich in dilated vessels deep in the wound (red arrows). Hematoxylin and eosin stain. $\times 100$

клетчатке отек и незначительная макрофагальная инфильтрация. В краях раны определялись признаки начинающейся пролиферации эпидермиса и его наполнение на поверхность раневого дефекта (рис. 8).

В группе 3 в аналогичном периоде детрит в области повреждения отсутствовал, сохранялась слабо выраженная лейкоцитарная инфильтрация. Дно раны выстилала вновь образованная рыхлая соединительная ткань со скудной лимфоидно-гистиоцитарной инфильтрацией. В подкожной жировой клетчатке определялись умеренный отек и слабо выраженная макрофагальная инфильтрация, в краях раны – массивные очаги регенерации эпидермиса (рис. 9).

Продолжительность времени для полной эпидермизации оказалась минимальной в группе 3, где использовали РП с нановолокнами хитозана. В последующей хронологии заживления ран в разных группах тенденция увеличения статистических различий прослеживается на протяжении всего периода лечения, вплоть до полного их заживления (рис. 10).

Полная эпителизация в опытной группе наступила на 27-е сутки эксперимента. В то же время в группах 1 и 2 площадь дефекта составляла $25,14 \pm 0,41\%$ и $15,6 \pm 0,63\%$ от исходных цифр. В группе 3 средняя скорость эпидермизации составляла $11,6 \text{ мм}^2$ в сутки, тогда как в группах 1 и 2 данный показатель был соответственно $9,0 \text{ мм}^2$ и $10,2 \text{ мм}^2$. При этом статистически значимые различия на 27-е сутки регистрировались между всеми группами (табл. 3, 4).

Микроскопически образованный эпидермис в зоне повреждения у 3-й группы животных к 27-м суткам был неравномерно утолщен, дифференцирован. Лейкоцитарная инфильтрация отсутствовала. В дерме разрасталась зрелая соединительная ткань с обычным клеточным составом и упорядоченным расположением волокон. В подкожной клетчатке

Рис. 9. Зона холодовой травмы (группа 3, 11-е сутки): а – в дне раны тканевой детрит отсутствует, определяется скудная лейкоцитарная инфильтрация (синяя стрелка); рыхлая соединительная ткань, богатая расширенными сосудами в глубине раны (красные стрелки); б – островки пролиферации эпителия в крае раны (зеленые стрелки). Окр. гематоксилином и эозином. $\times 100$ (а), $\times 200$ (б)

Fig. 9. Zone of cold injury (group 3, 11th day): а – there is no tissue detritus in the bottom of the wound, scanty leukocyte infiltration is determined (blue arrow); loose connective tissue rich in dilated vessels deep in the wound (red arrows); б – islets of epithelial proliferation at the edge of the wound. Hematoxylin and eosin stain (green arrows). $\times 100$ (а), $\times 200$ (б)

Рис. 10. Коробковые диаграммы заживления ран после криповреждения во всех группах (временные срезы, в процентах)

Fig. 10. Box diagrams of wound healing after cryoinjury in all groups (time slices, in percent)

Таблица 3
Описательные статистики и результаты статистических тестов на временном срезе «27-е сутки» в % от исходной площади повреждения

Table 3	Descriptive statistics and results of statistical tests on the "27th day" time slice as a % of the original damage area		
Группа	1	2	3
Объем	5	5	5
Min	24,4	14	17,7
Max	26,7	17,7	0
M±m	25,14±0,41	15,6±0,63	0
Доверительный интервал для среднего	25,1±0,8	15,6±1,2	0
Доверительный интервал для медианы	24,8±1,1	15,4±1,9	0
Me (Q1; Q3)	24,8 (24,4; 25,3)	15,44 (14,8; 16)	0 (0; 0)
Тест Краскела – Уоллиса	p<0,05**		
Различия между группами	Группа 1 – группа 2: p<0,05* Группа 1 – группа 3: p<0,05** Группа 2 – группа 3: p<0,05**		

Примечания: p<0,05* соответствует значению р от 0,02 до 0,05; p<0,05** соответствует значению p<0,02.

Таблица 4

Описательные статистики и результаты статистических тестов на временном срезе «27-е сутки» в мм²

Table 4
Descriptive statistics and results of statistical tests on the "27th day" time slice in mm²

Группа	1	2	3
Объем	5	5	5
Min	77	44,2	0
Max	83,9	56	0
M±m	79,22±1,27	49,25±1,99	0
Доверительный интервал для среднего	79,2±2,5	49,3±3,9	0
Доверительный интервал для медианы	78±3,4	48,6±5,9	0
Me (Q1; Q3)	78 (77,2; 80)	48,6 (46,8; 50,6)	0 (0; 0)
Тест Краскела – Уоллиса	p<0,05**		
Различия между группами	Группа 1 – группа 2: p<0,05* Группа 2 – группа 3: p<0,05** Группа 1 – группа 3: p<0,05**		

Примечания: p<0,05* соответствует значению p от 0,02 до 0,05; p<0,05** соответствует значению p<0,02.

Рис. 11. Зона криповреждения (группа 3, 27-е сутки) после холодового воздействия: рана эпидермизировалась (красная стрелка), коллагеновые волокна в дерме располагаются упорядоченно (желтая стрелка), воспалительная инфильтрация отсутствует. Окр. гематоксилином и эозином. ×100

Fig. 11. Zone of cryodamage (group 3, 27th day) after cold exposure): the wound is epidermized (red arrow), collagen fibers in the dermis are arranged in an orderly manner (yellow arrow), there is no inflammatory infiltration. Hematoxylin and eosin stain. ×100

и мышечной ткани определялись клеточные элементы фибробластического ряда и уже сформированные коллагеновые волокна (рис. 11).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования по изучению вопроса эффективности различных методов местного лечения экспериментальных глубоких отморожений в сочетании с ранней некрэктомией на 3-и сутки были получены морфогистологические доказательства того,

что использование раневых покрытий с нановолокнами хитозана достоверно ускоряет регенерацию поврежденных тканей в сравнении с традиционными методами лечения. В опытной группе статистически значимый результат динамики заживления ран по сравнению с контрольными группами наблюдался уже на 7-е сутки после моделирования холодовой травмы до полной эпителизации. Выполнение ранней некрэктомии на 3-и сутки, по всей видимости, является преждевременным из-за недостаточного отграничения патологического процесса. Струп на начальных этапах выполняет роль биологической повязки, и его удаление приводит к значительной травматизации тканей и замедлению регенерации раны. Дальнейшие исследования позволят выявить оптимальные сроки выполнения ранней некрэктомии при экспериментальных отморожениях.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста – Меламед В.Д., Валентюкевич А.Л., Островский А.А.

Authors' contribution: concept and design of research, collection of material, processing, writing text – Melamed V., Valentyukevich A., Astrowski A.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ingram B., Tyler R. (2013) Recognition and treatment of freezing and nonfreezing cold injuries. *Current Sports Medicine Reports*, vol. 12, no 2, pp. 125–130. doi: 10.1093/bmb/ldw001
2. Handford Ch., Buxton P., Russell K., Imray C., McIntosh S., Freer L., Cochran A., Imray Ch. (2014) Frostbite: a practical approach to hospital management (electronic journal). *Extreme physiology medicine*, vol. 3, no 7. Available at: <http://www.extremephysiolmed.com/content/3/1/7> (accessed 22 April 2014). doi: 10.1186/2046-7648-3-7
3. Mikhailichenko M., Shapovalov K. (2019) Microcirculatornyye narusheniya v patogeneze mestnoi holodovoi travmy [Microcirculatory disturbances in the pathogenesis of local cold injuries. Regional hemodynamics and microcirculation]. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkuljacija*, vol. 18, no 2, pp. 4–11. doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-4-11
4. Schellenberg M., Cheng V., Inaba K., Foran C., Warriner Z., Trust M., Clark D., Demetriades D. (2020) Frostbite injuries: independent predictors of outcomes. *Turkish Journal Surgery*, vol. 36, no 2, pp. 218–223. doi: 10.5578/turksurg.4632
5. (2017) *Diagnostika i lechenie otmorozhenij (klinicheskie rekomendacii)* [Diagnostic and treatment of frostbite: 2017 (clinical guidelines)], Chita, Chitinskaja gosudarstvennaja medicinskaja akademija.
6. Gao Y., Wang F., Zhou W., Pan Sh. (2021) Research progress in the pathogenic mechanisms and imaging of severe frostbite. *European Journal of Radiology* (electronic journal), vol. 137. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0720048X21000851> (accessed 17 February 2021). doi: 10.1016/j.ejrad.2021.109605
7. Terra M., Vloemans A., Breederveld R. (2013) Frostbite injury: a paragliding accident at 5500 meters (electronic journal). *Acta Chirurgica Belgica*, vol. 113, no 2, pp. 143–145. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00015458.2013.11680900> (accessed 11 March 2016). doi: 10.1080/00015458.2013.11680900.
8. Gross E., Moore J. (2012) Using thrombolytics in frostbite injury. *Journal of Emergencies Trauma Shock*, vol. 5, no 4, pp. 267–271. doi: 10.4103/0974-2700.99709
9. Hong-Xu J., Yue T., Jing D., Xiao-Dong Zh. (2021) Expert consensus on the prevention, diagnosis and treatment of cold injury in China. *Military Medical Research* (electronic journal), vol. 8, no 6. Available at: <https://mmrjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40779-020-00295-z> (accessed 10 February 2021). doi: 10.1186/s40779-020-00295-z
10. Valentyukevich A., Melamed V., Astrowski A. (2020) Jeksperimentalnoe modelirovanie otmorozhenij razlichnoj stepeni tjazhesti. Chast 1. Razrabotka i tehnicheckie harakteristiki ustrojstv [Experimental modeling of frostbite of varying severity. Part 1. Development and technical characteristics of devices]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, vol. 18, no 6, pp. 722–726. doi: 10.25298/2221-8785-2020-18-6-722-726.

11. Melamed V., Valentyukovich A. (2017) Ranevloe pokrytie s nanovoloknami hitozana "Hitomed-ranozazhivljajushhee": ot doklinicheskikh issledovanij do registracionnogo udostoverenija [Wound covering with chitosan nanofibers "Hitomed-wound-healing": from preclinical studies to registration certificate]. Proceedings of the *Hirurgicheskie infekcii kozhi i mjagkih tkanej u detej i vzroslyh: mezhdunarodnaja nauchno-prakticheskaja konferencija, posvjashhennaja 140-letiju so dnja rozhdenija professora V.F. Vojno-Jaseneckogo, GD 2017* (Simferopol', Respublika Krym, Maj 15–16, 2017), pp. 167–168.
12. STATISTICA: Data Mining, analiz dannyh, kontrol' kachestva, prognozirovanie, obuchenie, konsalting [STATISTICA: Data Mining, data analysis, quality control, forecasting, training, consulting] (electronic resource). Available at: <http://statsoft.ru/> (accessed 27 November 2019).
13. R Core Team (2018) *R: A Language and Environment for Statistical Computing* (electronic resource). Available at: <https://www.r-project.org/about.html> (accessed 01 May 2018).
14. Schneider G., Chicken E., Becvarik R. (2019) *NSM3: Functions and Datasets to Accompany Hollander, Wolfe, and Chicken - Nonparametric Statistical Methods, Third Edition* (electronic resource). Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=NSM3> (accessed 25 July 2019).
15. Pohlert T. (2021) *PMC MRplus: Calculate Pairwise Multiple Comparisons of Mean Rank Sums Extended* (electronic resource). Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=PMCMRplus> (accessed 23 April 2021).
16. Medik V., Tokmachev M. (2018) *Matematicheskaja statistika v medicine v 2 t. Tom 1, 2-e izd., per. i dop. Uchebnoe posobie dlja bakalavriata, specialiteta i magistratury* [Mathematical statistics in medicine in 2 volumes. Volume 1, 2nd ed., Trans. and add. Study guide for undergraduate, specialist and graduate programs], Moscow: Jurajt, pp. 471.
17. Osikov M., Simonjan E., Goloshchapova Zh., Saedgalina O., Birjukova T. (2017) Dinamika reparativnyh processov pri jeksperimental'noj termicheskoj travme v uslovijah primeneniya transdermal'noj plenki s jeritropojetinom [Dynamics of Reparative Processes in Experimental Thermal Trauma under the Conditions of Using a Transdermal Film with Erythropoietin]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija* (electronic journal), no 1. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26068> (accessed 20 October 2013)
18. Lazarenko V., Mishustin V., Kvachahija L., Monovcov I. (2016) Optimizacija rezul'tatov lechenija glubokih nekrozov putjom racional'noj nekrjektomii v jeksperimente [Optimization of the results of treatment of deep necrosis by rational necrectomy in experiment]. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik "Chelovek i ego zdorov'e"*, no 3, pp. 81–88. doi: 10.21626/vestnik/2016-3/13.
19. Shakirov B., Tagaev K. (2017) Nash opyt lechenija mestnoj holodovoj travmy konechnostej [Our Experience in Treating Local Cold Injuries to the Extremities]. *Vestnik jekstrennoj mediciny*, no 1, pp. 29–32.

Подана/Submitted: 24.10.2021

Принята/Accepted: 08.12.2021

Контакты/Contacts: artem.valentyukovich@mail.ru