

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный
медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ТУКТАГУЛОВ Никита Владимирович

**ПРИМЕНЕНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АРГОНОВОЙ ПЛАЗМЫ
В ЛЕЧЕНИИ РАН ПОСЛЕ ОТКРЫТОЙ ГЕМОРРОИДЭКТОМИИ**

3.1.9 – хирургия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Вышегородцев Дмитрий Вячеславович,
доктор медицинских наук

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1. Введение.....	9
1.2. Раны и раневой процесс, современные представления.....	9
1.3. Современные методы лечения ран.....	13
1.4. Физические свойства и механизм действия низкотемпературной аргоновой плазмы.....	18
1.5. Применение низкотемпературной аргоновой плазмы.....	24
1.6. Лечебная тактика при геморрое.....	25
1.7. Заключение.....	27
Глава 2. ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ НАБЛЮДЕНИЙ. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АРГОНОВОЙ ПЛАЗМЫ В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ.....	28
2.1. Дизайн исследования.....	28
2.2. Характеристика оборудования для образования низкотемпературной аргоновой плазмы.....	29
2.3. Методика обработки послеоперационной раны воздействием низкотемпературной аргоновой плазмы.....	32
2.4. Общая характеристика клинических наблюдений.....	34
2.5. Методы обследования.....	37
2.6. Статистическая обработка результатов.....	47
2.7. Техника выполнения открытой геморроидэктомии.....	47
2.8. Послеоперационное ведение пациентов.....	48
Глава 3. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИМЕНЕНИЯ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АРГОНОВОЙ ПЛАЗМЫ В ЛЕЧЕНИИ РАН ПОСЛЕ ОТКРЫТОЙ ГЕМОРОИДЭКТОМИИ.....	49
3.1. Общая характеристика послеоперационного периода.....	49
3.2. Оценка уровня болевого синдрома.....	49
3.3. Ранние послеоперационные осложнения.....	54
3.4. Клиническая оценка заживления ран после операции.....	55
3.5. Сравнительная оценка динамики заживления послеоперационных ран.....	60
3.6. Сравнительная оценка заживления раны на основании цитологических исследований.....	62
3.7. Оценка качества жизни как критерий для сравнения эффективности комплексного лечения ран после геморроидэктомии.....	68

Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	70
4.1. Микробиологическое исследование материала из послеоперационных ран	70
4.2. Применение низкотемпературной аргоновой плазмы на биопленки бактерий <i>in vitro</i>	79
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	87
ВЫВОДЫ	97
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	99
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	100
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	101

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы и степень ее разработанности

Несмотря на бурное развитие современных малоинвазивных методов лечения геморроя, геморроидэктомия по-прежнему занимает важное место в лечении этого заболевания, являясь наиболее оптимальным методом лечения его поздних стадий [32, 52, 102]. На сегодняшний день известны различные методики выполнения геморроидэктомии. Эта операция независимо от применяемого метода приводит к образованию открытых ран анального канала, сроки заживления которых остаются длительными, достигая 45 дней [31, 90, 98]. Столь длительный период заживления послеоперационных ран перианальной области обусловлен постоянной контаминацией кишечной микрофлорой, что приводит к неизбежному воспалению тканей и выраженному длительному болевому синдрому. В результате этого снижается качество жизни пациентов на длительный период времени и увеличивается время трудовой реабилитации. Поэтому возрастает актуальность поиска новых методов, улучшающих заживление послеоперационных ран анального канала и промежности.

В последние двадцать лет в качестве физиотерапевтического лечения различных ран, в том числе и гнойных, трофических язв и пролежней стала активно использоваться низкотемпературная аргоновая плазма (НАП). Достоинством этого метода лечения является достижение антибактериального и ранозаживляющего действия. При этом воздействие на ткани организма происходит без повреждающего действия на них [79, 105]. Однако в настоящее время в медицинской литературе крайне мало исследований, посвященных применению НАП для лечения хронических, длительно незаживающих и послеоперационных ран. Рандомизированные исследования, в которых эта методика применялась для лечения послеоперационных ран анального канала и промежности, отсутствуют.

Эти обстоятельства послужили поводом для проведения нами проспективного рандомизированного исследования, посвященного применению низкотемпературной аргоновой плазмы в лечении ран после открытой геморроидэктомии.

Цель исследования – улучшить результаты лечения больных с комбинированным геморроем 4-й стадии.

Задачи исследования

1. Провести оценку эффективности НАП на заживление ран после открытой геморроидэктомии в сравнении с традиционным лечением.
2. Изучить влияние НАП на степень выраженности болевого синдрома у пациентов после геморроидэктомии по сравнению с традиционным ведением послеоперационного периода.
3. Оценить влияние НАП на течение раневого процесса на основании данных цитологических исследований.
4. Определить действие НАП на клинически значимые микроорганизмы послеоперационных ран и на биопленочные культуры *in vitro* анального канала и перианальной области.
5. Изучить параметры качества жизни у пациентов в послеоперационном периоде после открытой геморроидэктомии с применением НАП.

Научная новизна

Впервые в мире было проведено проспективное рандомизированное исследование, в результате которого установлено, что применение низкотемпературной аргоновой плазмы в лечении ран перианальной области после открытой геморроидэктомии значительно снижает сроки заживления этих ран и способствует уменьшению послеоперационного болевого синдрома.

На основании проведенных цитологических исследований доказано ускорение скорости заживления этих ран на всех фазах раневого процесса.

Результаты микробиологических исследований показали, что низкотемпературная аргоновая плазма обладает выраженным антибактериальным действием и способна оказывать бактерицидный и бактериостатический эффект на микроорганизмы, присущие ранам перианальной области, в том числе, образующие биопленки, что открывает новые возможности в борьбе с раневой инфекцией при лечении ран этой локализации.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Применение низкотемпературной аргоновой плазмы возможно в комплексном лечении ран после геморроидэктомии. Учитывая схожий механизм заживления ран аноректальной области, возможно применение и при других заболеваниях. Использование 10 сеансов данной методики в режиме В2 в течение 4 минут способствует достоверному снижению сроков заживления послеоперационных ран. В случае неполного заживления раны в течение 10 сеансов возможно увеличение количества процедур.

Положения, выносимые на защиту

1. Применение низкотемпературной аргоновой плазмы ускоряет заживление раны после открытой геморроидэктомии на 39%.
2. Использование низкотемпературной аргоновой плазмы снижает уровень болевого синдрома у пациентов после открытой геморроидэктомии.
3. Низкотемпературная аргоновая плазма *in vitro* обладает выраженным антибактериальным действием, в том числе и на биопленочные культуры.
4. Применение низкотемпературной аргоновой плазмы влияет на улучшение качества жизни у больных после открытой геморроидэктомии.

Доклады и публикации

Основные положения диссертационной работы доложены на научно-практической конференции ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А. Н. Рыжих» Минздрава России (г. Москва, 17.05.2021), на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Российский колопроктологический форум» (г. Москва, 5–7 ноября 2020 года), на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Российский колопроктологический форум» (г. Москва, 7–9 октября 2021 года).

Результаты исследования опубликованы в 3 печатных работах в журналах, рекомендуемых ВАК для размещения материалов докторских и кандидатских диссертаций:

1. Фролов, С. А. Возможности применения низкотемпературной аргоновой плазмы в лечении послеоперационных и длительно незаживающих ран / С. А. Фролов, А. М. Кузьминов, Д. В. Вышегородцев [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2019. – Т. 29, № 6. – С. 15–21.

2. Кузьминов, А. М. Первый опыт применения низкотемпературной аргоновой плазмы в лечении ран после открытой геморроидэктомии / А. М. Кузьминов, С. А. Фролов, Д. В. Вышегородцев [и др.] // Новости хирургии. – 2020. – Т. 28, № 5. – С. 543–550.

3. Фролов, С. А. Применение низкотемпературной аргоновой плазмы в лечении ран после открытой геморроидэктомии / С. А. Фролов, А. М. Кузьминов, Д. В. Вышегородцев [и др.] // Колопроктология. – 2021. – Т. 20. – № 3(77). – С. 51–61.

Исследование зарегистрировано на сайте «clinicaltrials.gov» (регистрационный номер NCT03907306).

Степень достоверности и апробация результатов. Количество пациентов, которые были включены в исследование и длительность наблюдения за ними, а также полученные результаты лечения и статистическая обработка данных делают полученные результаты достоверными.

Апробация работы состоялась на совместной научно-практической конференции с участием сотрудников отдела «малоинвазивной колопроктологии и стационарзамещающих технологий» и отдела «общей и реконструктивной колопроктологии» ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России 25 мая 2022. Диссертационное исследование одобрено 01.11.2018 локальным независимым этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты проведенной диссертационной работы внедрены в практическую работу ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А. Н. Рыжих» Минздрава России, а также в работе колопроктологического отделения ГБУЗ «ГКБ № 24» ДМЗ. Результаты исследования используются в учебном процессе кафедры колопроктологии ФГБОУ ДПО «РМАНПО» Минздрава России.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа написана на 112 страницах печатного текста, набранного на компьютере в редакторе Word MS Office 2011 for Windows шрифтом Times New Roman кеглем №14. Состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, который включает 112 источник, из них 34 – отечественных и 78 зарубежных. Диссертационная работа иллюстрирована 27 рисунками и включает 20 таблиц.

Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности «Хирургия». Диссертационная работа соответствует п. 2 «Разработка и усовершенствование методов диагностики и предупреждения хирургических заболеваний» и п. 4 «Экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику» паспорта специальности 3.1.9 Хирургия, поскольку включает оценку результатов лечения больных после открытой геморроидэктомии, а также действие низкотемпературной аргоновой плазмы в лечении послеоперационных ран анального канала и перианальной области.

Личный вклад автора. Автором был проведен поиск и обзор литературы по теме исследования, на основании которого доказана актуальность проблемы и разработан дизайн исследования. На догоспитальном этапе проводилось обследование больных: сбор жалоб и анамнеза заболевания, выявление показаний к проведению трансректального ультразвукового исследования и колоноскопии, а также к включению пациентов в исследование. Автор участвовал во всех операциях и в послеоперационном ведении пациентов. Все сеансы применения низкотемпературной аргоновой плазмы были выполнены автором. Автор участвовал во всех заборах биоматериала для цитологического и микробиологического исследований, проводил анкетирование пациентов для анализа их качества жизни в послеоперационном периоде. Также автором был выполнен анализ результатов исследования и их статистическая обработка. Автор принимал участие в написании публикаций и докладов для выступлений на различных конференциях.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Введение

Не смотря на успехи современной хирургии, проблема лечения послеоперационных ран по-прежнему остается актуальной. Особое место занимают послеоперационные раны анального канала и промежности. Это связано с тем, что раневая поверхность подвергается постоянному обсеменению кишечной микрофлорой. Поэтому заживление происходит вторичным натяжением и сопровождается длительным воспалительным процессом в области раны и болевым синдромом. Это, в свою очередь, увеличивает сроки пребывания пациентов в стационаре и период трудовой реабилитации. Все эти факторы приводят к снижению качества жизни оперированных пациентов. Существуют различные способы ускорения темпов заживления ран, а именно применение различных повязок с антисептическими и другими лекарственными средствами. Однако, учитывая рельеф промежности, их сложно фиксировать в этой области, что делает применение малоэффективным. Поэтому, несомненно, возрастает актуальность применения различных физических методов лечения ран.

1.2. Раны и раневой процесс, современные представления

В настоящее время известно достаточно много классификаций основных стадий раневого процесса. Так, в патофизиологии разделяют процесс на стадию альтерации, экссудации и пролиферации, тогда как патоморфологи выделяют стадию воспаления, макрофагальной реакции и стадию формирования грануляционной и соединительной тканей [1, 2, 3, 9, 29]. Еще в 1929 году Howes E. L. разработал одну из первых классификаций раневого процесса, отличием которой было выделение первой фазы как латентного периода. Однако по данным современной литературы известно, что заживление раны происходит сразу после получения травмы [37, 85]. Немного позже И. Г. Руфанов в 1954 году предложил свою классификацию, в которой выделял 2 фазы: 1) гидратации; 2) дегидратации [23]. Однако в данной клас-

сификации говорится лишь об одном признаке, и он не является основополагающим. Примерно в то же время С. С. Гирголав (1956) и R. Ross (1968) опубликовали работы, в которых разделяли раневой процесс на 3 фазы: фаза воспаления, фаза регенерации, которая заканчивается заполнением полости раны новообразованной тканью, и фаза формирования рубца [11, 85]. Данная классификация подробно отражает ход раневого процесса и максимально близка к современной. На сегодняшний день клиницисты наиболее часто используют классификацию, предложенную в 1977 году М. И. Кузиным. Первая фаза – фаза воспаления, которая делится на период сосудистых изменений и период очищения раны; вторая фаза – фаза регенерации, образования и созревания грануляционной ткани; третья фаза – фаза образования и реорганизации рубца [16, 17]. Отличительной и важной чертой данной классификации является разделение 1-й фазы на 2 периода.

Разделение раневого процесса на фазы и стадии носит условный характер, так как нет четкой грани между окончанием одной и началом другой фазы [14, 75]. Длительность фаз раневого процесса заранее предусмотреть невозможно, поэтому важно понимать морфологические механизмы и клиническую картину заживления раны для достижения максимального терапевтического эффекта [8, 15, 16]. Характер образования раневого дефекта, его бактериальная обсемененность и вирулентность микрофлоры, а также состояние реактивности организма являются одними из основных факторов, которые влияют на длительность течения отдельных фаз раневого процесса [12, 16, 21, 73].

По современным представлениям течения раневого процесса период сосудистых изменений (I фаза раневого процесса) начинается с повреждения ткани. После повреждения вследствие усиления кровообращения в рану поступают клеточные элементы крови, различные белки и медиаторы. Среди белков наибольшее значение имеет фибриноген. Первоначально происходит вазоконстрикция, которая обычно длится 5–10 минут. В течение этого времени происходит агрегация и адгезия тромбоцитов, которая приводит к тромбированию сосудов. За вазоконстрикцией следует вазодилатация, для которой характерна повышенная проницаемость капилляров, в область повреждения продолжают поступать форменные элементы

крови и различные медиаторы. Ключевым химическим медиатором, отвечающим за вазодилатацию и проницаемость сосудов, является гистамин, который наиболее активен в течение первых 3 суток. Клинически период сосудистых изменений характеризуется местным воспалением, проявлением которого являются эритема, местное повышение температуры тела, отек тканей и болевой синдром. Таким образом, за счет периода сосудистых изменений тканевая жидкость оттекает из раны, тем самым минимизируя контакт окружающих поврежденных тканей с патогенной флорой и их токсинами. В период очищения раны происходит расплавление и удаление некротизированных тканей. Тромбоциты выделяют тромбоцитарный фактор роста, трансформирующие факторы роста A1 и 2 (TGF-A1 и TGF 2), которые способствуют поступлению с током крови нейтрофильных лейкоцитов в рану [93]. Они начинают высвобождать ферменты, которые разрушают микроорганизмы и способствуют очищению раны. Отсутствие инородных тел и микроорганизмов способствуют снижению количества лейкоцитов, и в них происходят явления дегенерации и дистрофии: ядра клеток гипертрофированы, контур их размыт, хроматин разрыхлен, цитоплазма не имеет четких границ. В среднем через 1–2 суток в ране появляются макрофаги, которые играют главную роль в очищении раны посредством фагоцитоза. Немаловажной функцией макрофагов является активация фибробластов и стимуляция роста кровеносных сосудов. Максимальное количество макрофагов достигает к 3–4-м суткам [16]. Степень выраженности воспаления и его длительность влияет на плотность и количество формирующейся рубцовой ткани.

Известно, что время заживления раны напрямую зависит от скорости очищения раны. Во 2-й фазе раневого процесса образуется грануляционная ткань, которая постепенно заполняет раневой дефект. Главную роль в формировании межклеточного матрикса играют фибробласты, которые синтезируют коллаген, эластин и протеогликаны. Своего максимума фибробласты достигают в конце фазы воспаления. Из макрофагов образуются тучные клетки, которые также играют большую роль в формировании соединительной ткани. Максимальное их количество образуется в среднем к 8-му дню.

Вторая фаза раневого процесса активно сопровождается неоангиогенезом. За

счет TGF- α 1, интерлейкина 1, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), фактора роста фибробластов 2 (FGF-2) и PDGF- β эндотелиальные клетки разрушают базальную мембрану и мигрируют к ране, впоследствии образуя новые сосуды [59, 93]. При снижении этого процесса фибробласты перестают мигрировать в рану. Грануляционная ткань бесцветная, но за счет большого количества кровеносных сосудов имеет красно-розовую окраску, при контакте с ней отмечается повышенная кровоточивость. Одна из функций грануляционной ткани – служить барьером для получения микрофлорой питательных веществ. Образующий фибробластами коллаген является важным строительным материалом соединительной ткани. Прочность раны напрямую зависит от образуемого коллагена. Его образование регулируется ферментом коллагеназой. Заживление раны происходит не только за счет образования грануляционной ткани, но и за счет наличия миофибробластов. Миофибробласты активируются за счет TGF- α , белков фибронектина ED- α и тенасцина C, что ведет к запуску раневой контракции [93]. Этот процесс включает в себя центростремительное движение кожи, окружающую рану.

В фазу образования и реорганизации рубца происходит уплотнение грануляционной ткани и нарастание количества коллагеновых волокон. За счет TGF- α , фактора некроза опухоли и FGF-2 запускаются процесс апоптоза клеток дермы, что приводит к образованию рубца [35, 54]. Беспорядочно расположенные коллагеновые фибриллы, переходят в более организованные структуры, а многие из них лизируются с помощью коллагеназы и замещаются новыми. Происходит постепенное запустевание кровеносных сосудов и снижение количества форменных элементов крови. Вместе с созреванием грануляционной ткани активно происходит эпителизация раны, однако несколько слоев клеток базального эпителия формируется уже в течение 1 суток с момента повреждения ткани. Результатом раневого заживления является образование рубца, который со временем становится плоским, светлым и мягким. Важнейшим условием заживления раны является строгая синхронизация созревания грануляционной ткани и процесса эпителизации [16, 18].

Выделяют 3 типа процесса раневого заживления: первичным натяжением, вторичным натяжением и заживление под струпом [16]. Первичным натяжением

возможно заживление раны после хирургических вмешательств и резанных ран, когда возможно без натяжения сопоставить ее края. Сводить края раны можно только при отсутствии инфекции и инородных тел [18, 21, 85]. Заживление вторичным натяжением чаще всего происходит в высоко контаминированных и инфицированных ранах, а также при наличии большого раневого дефекта [12, 24]. Преимуществом заживления ран вторичным натяжением – снижение риска нагноения послеоперационной раны, недостатком является необходимость ежедневных перевязок и формирование грубого рубца. Заживление под струпом происходит только при небольших поверхностных ранах [16]. На раневой поверхности образуется сгусток крови, из которого в последующем образуется струп. Результатом является формирование нежного рубца. Однако при преждевременном его отторжении или скопления под ним гнойного экссудата заживление происходит вторичным натяжением.

1.3. Современные методы лечения ран

Для лечения ран наиболее распространенным методом является применение различных перевязочных материалов, способствующих поддержанию влажной среды, что обеспечивает благоприятные условия для процесса их заживления [55].

Хорошие результаты были получены при применении перевязочного материала с гидрогелем. Это обусловлено тем, что гидрогель обладает хорошей проницаемостью и биосовместимостью, а также способен обеспечивать влажную среду для лечения раны [81].

Помимо создания благоприятной среды для заживления раны гидрогелевые повязки обладают антибактериальным действием [92].

В. И. Сильвестрович (2021) в своем исследовании применял композитное гидрогелевое покрытие на основе поливинилового спирта для лечения ран у крыс. По результатам исследования было доказано, что скорость заживления ран у крыс с применением вышеуказанных повязок была выше, и раны зажили быстрее, чем у крыс в группе контроля [26].

Было проведено исследование, в котором применялась гиалуроновая кислота в лечении трофических язв нижних конечностей. Гиалуроновая кислота – это природный полисахарид, который входит в состав внеклеточного матрикса млекопитающих и обладает отличной биосовместимостью и биоразлагаемостью. В основную группу были включены 50 пациентов, в контрольную – 51. Установлено, что к 45-му дню уменьшение раны произошло на $39\pm 6\%$ у больных основной группы, тогда как у пациентов контрольной группы – лишь на $5\pm 9\%$ ($p = 0,002$). Помимо этого, отмечено снижение уровня болевого синдрома у пациентов основной группы $p = 0,028$ [53].

Известно, что гормон инсулин регулирует уровень глюкозы в крови. Однако, кроме этого, инсулин обладает ранозаживляющими свойствами. Singh M. (2020) провел рандомизированное исследование, в котором изучил эффективность инсулина в лечении ран больных с лепрой. 23 пациента были включены в основную группу, 19 больных – в контрольную. Пациентом основной группы рана обрабатывалась дважды в день раствором, который состоял из 10 Ед обычного человеческого инсулина и 1 мл физиологического раствора (0,9% NaCl). Скорость заживления раны у пациентов основной и контрольной группы была $0,61\pm 0,31$ и $0,14\pm 0,42$ см² в неделю, соответственно, $p < 0,0001$. Полное заживление раны было на $31,5\pm 17,6$ и $44,3\pm 16,2$ дни у пациентов основной и контрольной группы, соответственно, $P = 0,02$ [94].

С давних времен в лечении ран различной этиологии и локализации применяли растение алоэ. В 2018 году было предпринято рандомизированное исследование, в котором применялось алоэ в лечении ран после взятия кожного трансплантата. В основную группу были включены 6 пациентов, которым в качестве заживления раны применяли гель с алоэ. В контрольной группе были также 6 больных, которым использовали плацебо. Полная эпителизация раны у пациентов основной и контрольной группы наступила на $11,5\pm 1,45$ и $13,67\pm 1,61$ день после начала лечения, соответственно, $p < 0,05$ [43].

Однако не только местное лечение различными повязками и мазями способствует ускоренной репарации. Этому способствует изменение рациона питания.

Так, добавление в пищу коллагена также влияет на регенерацию тканей. Было проведено рандомизированное исследование, в которое были включены пациенты с ожогами тела. Проанализированы результаты лечения 16 и 15 больных основной и контрольной групп. Пациентам основной группы в качестве дополнительного лечения в пищу добавляли 36 грамм коллагена. Через 4 недели у всех пациентов основной группы раны полностью зажили, тогда как у больных контрольной группы – лишь в 40% случаях [71].

Гипербарическая оксигенация – метод лечения, который заключается в применении кислорода под высоким давлением. Согласно проведенным исследованиям, данная методика способствует снижению воспаления в ране за счет подавления провоспалительных и активации противовоспалительных белков [83]. В 2017 году было опубликовано исследование, в котором применялась гипербарическая оксигенация для лечения трофических ран нижних конечностей. Пациентам основной группы в дополнении к традиционному лечению применялась гипербарическая оксигенация в течение 120 минут 5 дней в неделю в течение 4 недель, больным контрольной группы традиционное лечение. После проведенного лечения полное заживление раны было отмечено у 5 (25%) больных основной группы и у 1 (5,5%) пациента контрольной группы, $p = 0,010$ [47].

Вакуум-терапия активно используется в лечении ран различной локализации. В рандомизированном исследовании было показано, что применение вакуум-терапии в лечении трофических язв нижних конечностей у больных с сахарным диабетом 2-го типа способствовало ускорению заживления ран. Полное заживление ран через 3 недели наступило у 55,2% пациентов, которым была применена вышеуказанная терапия, тогда как без нее лишь у 26,7% больных, $p = 0,02$ [44].

Таким образом, на сегодняшний день существует большое число различных методов, которые способствуют увеличению скорости заживления ран. Однако вышеописанные методы имеют ряд недостатков, к которым относятся высокая стоимость материала и длительность применения. При лечении ран после колопроктологических операций наиболее важным значимым фактором является сложность

или невозможность фиксации перевязочного материала на ранах промежности. Поэтому возрастает актуальность применения физиотерапевтических методов на раны промежности, которые способствуют ускорению заживления ран.

Достаточно эффективным способом лечения различных ран является применение ультразвуковой терапии. Методика позволяет добиться улучшения микроциркуляции крови за счет повышения экспрессии фактора роста эндотелия сосудов и индуцированных ангиогенных цитокинов, а также ускорения процесса очищения раны, созревания грануляционной ткани и эпителизации [58]. За счет активации макрофагов и оксида азота действие ультразвука (УЗ) позволяет сократить сроки заживления раны [58, 97]. Rastogi с соавт. в 2019 году провели рандомизированное исследование, в котором в качестве физиотерапевтического лечения трофических язв применялся УЗ. Пациентам основной группы ($n = 34$) процедуру проводили ежедневно первые 6 дней и далее дважды в неделю 3 недели вместе со стандартным лечением, тогда как пациентам контрольной группы ($n = 26$) – только стандартное лечение. Уменьшение площади раны более чем на 50% наблюдалось в 33 (97,1%) и 19 (73,1%) случаев ($p = 0,042$) в основной и контрольной группах, соответственно. Через 2 недели после применения методики площадь раны уменьшилась на 5,3 см² и 3,0 см² у больных основной и контрольной групп ($p = 0,02$). Заживление ран через 4 недели с начала исследования наступило у 69,4±23,2% и 59,6±24,9% ($p = 0,126$) пациентов основной и контрольной групп, соответственно. По результатам данного исследования можно сделать вывод, что применение УЗ исследования позволяет сократить сроки заживления ран только в первые 14 дней [87].

Фотодинамическая терапия – метод, включающий в себя облучение поверхности светом определенной длины волны на фоне присутствия фотосенсибилизирующего препарата, который генерирует активные формы кислорода, что способствует гибели бактерий [7, 42, 95]. Данная методика способствует уменьшению воспаления в ране, поскольку увеличивает активность митохондрий и АТФ-синтазы, что способствует индукции пролиферации клеток, а также увеличивает образование нуклеиновых кислот и синтеза коллагена [86].

Исследование показало, что применение ФДТ способствовало ускорению заживления раны на 5–7 дней по сравнению с традиционным методом лечения [10]. В исследование было включено по 6 пациентов с трофическими язвами нижних конечностей в основную и контрольную группу. Применение ФДТ способствовало ускорению заживления раны. До применения методики размер раны был $14,40 \pm 13,14$ см², а после – $11,16 \pm 11,59$ см², $p = 0,036$. Тогда как без применения ФДТ $22,43 \pm 24,00$ см², а после – $20,59 \pm 24,32$ см², $p = 0,1$. Однако результаты данного исследования неоднозначны, что обусловлено малым числом пациентов. Кроме этого, было проведено лишь внутригрупповое сравнение результатов лечения ран.

Электростимуляцию применяли в лечении ран после колопроктологических операций. В 2014 году Пшеленская А. И. с соавт. провели исследование, в котором применяли электростимуляцию в лечении ран после иссечения эпителиального копчикового хода (ЭКХ) и свищей прямой кишки [22]. Удалось увеличить среднюю скорость заживления раны с $0,22 \pm 0,11$ см²/сут. до $0,57 \pm 0,15$ см²/сут. ($p < 0,001$), а относительную скорость эпителизации – с $0,85 \pm 0,39\%$ /сут. до $1,83 \pm 0,52\%$ /сут. ($p < 0,001$). Срок заживления раны был сокращен с $44,1 \pm 8,8$ до $39,7 \pm 8,1$ сут., $p = 0,013$. Однако в исследовании группы не были однородными. Большинство пациентов основной группы (34,7%) были с ЭКХ, тогда как в контрольной группе (31,3%) – с транссфинктерными свищами.

Орошение различными лечебными растворами часто используются в комплексном лечении ран промежности. Так, Kim J. H. с соавт. было проведено сравнительное исследование, в котором больным основной группы применяли озонированную воду в лечении ран после операции по поводу геморроя 3–4-й стадии [72]. Авторами выявлено статистически значимое уменьшение сроков заживления ран более чем на одну неделю по сравнению с контрольной группой. Также в результате исследования достоверно обнаружено снижение уровня послеоперационного болевого синдрома. Однако, длительность и большая частота лечебных манипуляций данной методики осложняют ее проведение в амбулаторных условиях.

Подводя итогу всему вышесказанному, следует отметить, что все вышеперечисленные методы, прежде всего, применяются при лечении различных ран и язв на открытых кожных поверхностях, в то время как раны после колопроктологических операций имеют свои особенности. Это, прежде всего, их постоянная контаминация кишечной микрофлорой, что приводит к неизбежному воспалению тканей анального канала и перианальной области. Заживление ран происходит вторичным натяжением и приводит к длительному болевому синдрому, что снижает качество жизни пациентов. Применение вышеописанных перевязочных материалов при лечении ран в этой анатомической области практически невозможно. Описанные ранее физиотерапевтические методы сложно применять на ранах промежности из-за длительности их воздействия. Таким образом, все вышеперечисленное диктует необходимость поисков других методов лечения послеоперационных ран перианальной области, которые могли бы комплексно воздействовать на все 3 фазы раневого процесса, повышая эффективность лечения, снижая его стоимость и длительность сроков реабилитации пациентов после геморроидэктомии.

Как было уже сказано выше, активно применяемые в мире физические методы лечения послеоперационных ран, такие как ударно-волновая терапия, ультразвук, электростимуляция, фотодинамическая терапия и многие другие, не лишены недостатков [38, 40, 60, 84]. Наиболее эффективными методами считаются те, которые комплексно воздействует на все 3 фазы раневого процесса. В последние годы обращает на себя внимание применение низкотемпературной аргоновой плазмы (НАП) для лечения ран и раневой инфекции.

1.4. Физические свойства и механизм действия низкотемпературной аргоновой плазмы

Первое упоминание о плазме как четвертом агрегатном состоянии вещества принадлежит американскому ученому I. Langmuir, который опубликовал данную информацию в статье в 1928 году. Плазма – это ионизированный газ, который состоит из ионов, нейтральных частиц и электронов, у которых средняя энергия электронов меньше характерного потенциала ионизации атома (< 10 эВ). Термин

«ионизированный газ» означает, что от большей части атомов и молекул отделён по крайней мере один электрон. Принцип работы плазменного генератора основан на прохождении инертного газа через электрический разряд, который возникает между двумя электродами, результатом этого процесса является ионизация газа (аргона) и образование факела плазмы, который выходит из сопла плазмотрона, температура которого варьирует от 3000 до 12000 °С в зависимости от выбранного режима [5, 25].

Дальнейшие исследования позволили снизить температуру плазмы, и появилась возможность безопасно применять ее на тканях человеческого организма. Такая плазма получила название низкотемпературной. Она слабо ионизирована, то есть число нейтральных атомов и молекул значительно превышает число ионов и электронов. Наиболее часто в качестве инертного газа используется аргон. Свойства плазменного потока изменяются в зависимости от расстояния рабочей поверхности сопла плазмотрона до раневой поверхности. Рассечение тканей осуществляется на расстоянии менее 5 мм, коагуляция сосудов диаметром 3–5 мм возможна на удалении от раны от 5 до 20 мм, осушение раневой поверхности происходит на расстоянии от 20 до 50 мм, а на удалении от раны 50 мм и более низкотемпературная аргоновая плазма (НАП) обладает физиотерапевтическим и антибактериальным действием.

В первую фазу раневого процесса важно снизить микробиологическую обсемененность и ускорить процесс очищения раны, а также обеспечить отток экссудата. Нейтрофилы – одни из первых клеток, которые поступают в рану. Их функция заключается в активации процесса фагоцитоза и местного иммунитета. По данным Yu Y. с соавт. (2011) применение НАП ускоряет миграцию нейтрофилов в рану. При использовании НАП максимальное воспаление в ране достигается на 4-й день, тогда как без применения – лишь к 7-му дню [37, 111]. НАП способствует синтезу моноцитарного хемотаксического фактора - 1 (MCP-1) и интерлейкина-6 (IL-6), которые, в свою очередь, ускоряют миграцию макрофагов к ране и активируют местный иммунный ответ, достигая максимума к 5-му дню, что позволяет уже к этому сроку запустить процесс фагоцитоза [37, 61].

Активация макрофагов приводит к высвобождению многих факторов роста, включая трансформирующий фактор роста - 1 (TGF-1) и фактор роста тромбоцитов (PDGF), которые стимулируют пролиферацию фибробластов и впоследствии способствуют образованию межклеточного вещества [112].

После очищения раны от некротических тканей и снижения микробиологической нагрузки важно своевременно начать стимулировать образование грануляционной ткани и проводить профилактику вторичного инфицирования. Одними из основных клеток, участвующих во 2-й фазе раневого процесса, являются фибробласты. Однако фибробласты участвуют не только в формировании межклеточного матрикса, но и в секреции факторов роста и цитокинов, которые активируют местный иммунный ответ [65]. Действие НАП запускает процесс пролиферации и миграции фибробластов к раневой поверхности [37, 49, 77, 88, 112]. По данным Arndt S. с соавт. (2013), миграция фибробластов к ране начинается через 12 часов после применения НАП [37].

В 3-ю фазу раневого процесса происходит образование эпителия, однако краевая и островковая эпителизация раны начинается в первые дни заживления раны. НАП способствует выработке эндогенной закиси азота (NO). NO может стимулировать пролиферацию эндотелиальных клеток и предотвращать их апоптоз, способствуя тем самым образованию новых кровеносных сосудов [39]. НАП способствует образованию фактора, индуцируемого гипоксией 1- α (HIF1 α), который активно участвует в неангиогенезе [49]. За счет выработки MCP-1 и образования NO происходит выработка коллагена I типа, который играет важную роль в формировании рубца [61, 109].

Известно, что транскрипционный фактор NF- κ B регулирует экспрессию генов иммунного ответа, воспаления, а также пролиферацию клеток. Его активации способствует ультрафиолетовое излучение (УФ), которое образуется при использовании НАП [63].

По данным исследования Arndt S. с соавт. (2013) применение НАП способствует образованию плотно расположенных волокон коллагена, по сравнению с лечением плацебо, после которого преобладает рыхлая соединительная ткань [37].

НАП активирует $\beta 1$ -интегрины, которые регулируют миграцию, пролиферацию и дифференцировку клеток эпидермиса, а также их адгезию на базальной мембране [66, 104]. НАП способствует выработке CXCL-1, который по данным исследователей активно участвует в заживлении раны [62, 74].

Гелектин-1 имеет немаловажную роль в процессе заживления раны. После обработки НАП образуется мембранная структура, в которой по данным электронной микроскопии увеличивается количество гелектина-1, тогда как применение электрокоагуляции, наоборот, приводит к его уменьшению [36].

Наличие ран различной этиологии у пациентов сопровождаются болевым синдромом. По данным J. Glover и П. Г. Брюсова НАП обладает анальгезирующим эффектом, который обусловлен как амортизирующим действием термокоагуляционного слоя, так и демиелинизацией терминальных нервных окончаний и разрушением синапсов [6, 64].

При внедрении новой методики достаточно важным компонентом является безопасность ее применения. В большинстве исследуемых случаев применения НАП не наблюдается аллергических и токсических реакций, в отличие от лечения различными антисептическими средствами и антибактериальными препаратами [67].

T. Maisch с соавт. (2017) исследовали безопасность применения НАП на фибробластах и кератиноцитах человека [79]. Клетки обрабатывались НАП ежедневно от 1 до 2 минут в течение 5 дней или от 2 до 10 минут однократно. В результате было показано, что при применении НАП отсутствует токсичность и мутагенность к клеткам организма. К схожим выводам пришли и K. Wende с соавт. (2016) [105]. Ученые не обнаружили каких-либо аллергических и токсических реакций. На основании результатов цитологического исследования, проведенного на мышах, было показано, что применение НАП в течение 10 минут не оказывало термического повреждения на клетки эпидермиса [76]. Schmidt A. (2017) применил 14 последовательных сеансов НАП на мышах. Животных наблюдали в течение года, не было обнаружено никаких изменений как в месте применения, так и во внутренних органах. Также авторами было отмечено, что заживление ран и образование рубцов было физиологично и не отличались от группы контроля [91].

Однако F. Brehmer с соавт. (2014) в своем исследовании обнаружили нежелательные явления после применения НАП [41]. В первом случае пациент однажды отметил локальную болезненность в области применения НАП, во втором случае – повышение температуры тела и гиперемию кожи в области нижней конечности, но вышеуказанные проявления не стали причиной отмены терапии с использованием НАП, и в последующем нежелательные явления не были зафиксированы. Проведенные исследования *in vitro* и *in vivo* доказывают, что использование НАП не вызывает выраженных аллергических, токсических и мутагенных реакций, и данную методику возможно безопасно применять в медицине.

Наличие условно-патогенных или патогенных микроорганизмов в ране может увеличить сроки заживления раны. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumonia* часто способствуют замедлению процесса заживления раны и способствуют хронизации процесса [107]. Как известно, вышеуказанные бактерии преобладают на раневой поверхности промежуточных ран, тем самым осложняя процесс заживления. НАП обладает антимикробным действием, которое осуществляется посредством действия на микроорганизмы пероксида водорода, озона, активных форм кислорода, ультрафиолетового излучения [80, 100, 101].

Механизм действия НАП заключается в разрушении ДНК, внутриклеточных белков и клеточной стенки микроорганизма [78, 101]. В своем исследовании Brehmer F. с соавт. (2014) доказали антибактериальное действие НАП, после ее применения отмечается значимое снижение количества бактерий ($p = 0,0313$) [41]. В исследовании Ermolaeva S. с соавт. (2012) было показано, что спустя 24 часа после применения НАП продолжалось уменьшение бактериальных клеток, что говорит об бактериостатическом действии на микроорганизмы [56].

По строению клеточной стенки все бактерии разделяются на грампозитивные и грамотрицательные. Действие НАП преимущественно разрушает пептидогликан клеточной стенки у грампозитивных микроорганизмов, тогда как действие НАП на грамотрицательные бактерии достигается за счет перекисного окисления липидов клеточной стенки [70, 110].

Антибактериальный эффект наиболее выражен в отношении грамотрицательных бактерий, по сравнению с грампозитивными ($p = 0,034$) [78]. Действие НАП зависит не только от строения бактериальной стенки, но и длительности воздействия на нее, наличия в клетке дополнительных структур, которые способствуют развитию устойчивости микроорганизмов к разрушающим факторам плазмы [78].

Maisch T. показал, что при использовании НАП в течение 10 минут отмечается снижение бактериальной плотности на логарифм (\log_{10}) между грампозитивными и грамотрицательными бактериями, тогда как при действии НАП в течение 1 и 3 минут значимой разницы не наблюдается ($p = 0,058$ и $p = 0,095$, соответственно) [78]. На основании вышеуказанных исследований можно отметить, что в большинстве случаев более выраженное воздействие происходит на грамотрицательные микроорганизмы, что вероятнее всего обусловлено строением их клеточной стенки.

Wiegand C. с соавт. (2014) в своем исследовании *in vitro* описали фунгицидное действие НАП [108]. Ermolaeva S. с соавт. (2014) доказали антимикробное действие на класс *Mycoplasma* [57]. НАП действует и на внутриклеточные микроорганизмы, такие как *Chlamydia trachomatis* [56].

В конце прошлого столетия ученые обнаружили, что расположение бактерий на поверхности ран сложно организовано и образует биопленки, которые состоят из микроорганизмов и межклеточного матрикса. Биопленки служат резервуаром для развития инфекции, тем самым способствуя развитию устойчивости к иммунной системе организма, а также являются одной из причин развития и распространения резистентности бактерий к антибактериальным препаратам [19, 46]. В биопленочных сообществах микроорганизмы обмениваются друг с другом различной генетической информацией [19].

Traba C. с соавт. (2015) доказали, что действие потока НАП в течение 10 минут на биопленки *Staphylococcus aureus* способствует уменьшению толщины биопленки и оказывает бактерицидное действие на микроорганизмы [100]. Тогда как другие авторы показали, что полное уничтожение биопленочной культуры *Staphylococcus epidermidis* (10^9 КОЕ/мл) произошло через 6 минут использования НАП [28].

1.5. Применение низкотемпературной аргоновой плазмы

В последнее время НАП используется в лечении ран различной этиологии. Данная методика широко применяется в лечении гнойных заболеваний кожи и подкожной жировой клетчатки, гнойно-некротических поражений мягких тканей нижних конечностей, пролежней, нагноений послеоперационных ран, рожистого воспаления [41, 50, 96]. НАП является безопасной процедурой. Так, НАП возможно использовать даже у пациентов с имплантированным водителем сердечного ритма поскольку генерация потока плазмы происходит внутри плазматрона, то есть не происходит электрического или химического воздействия на пациента [34].

После того, как была доказана безопасность НАП, ее стали применять в качестве физиотерапевтического метода лечения ран. В исследовании, проведенном на мышах, было показано, что НАП ускоряет заживление острой раны на 40–50%, в том числе и у мышей с СД 1-го и 2-го типов. У мышей с применением НАП отмечалось значительное снижение воспаления и ускорение образования коллагена, по сравнению с группой контроля. Наиболее значимое различие определялось с 9-го по 15-й день. У мышей с СД 2 скорость заживления была меньше [48].

Османов Э. Г. (2009) провел исследование, в котором изучал действие НАП в лечение больных с гнойно-некротическими ранами мягких тканей. Основная группа включала 38 больных, контрольная группа – 69 пациентов. Больным обеих групп проводилось лечение ран с применением этапных некрэктомий, антисептических средств и многокомпонентных мазей. Пациентам основной группы в качестве дополнительного лечения использовалась НАП. В основной и контрольной группах очищение раны было на $4,9 \pm 0,4$ и $5,2 \pm 0,5$ день, появление грануляционной ткани – на $8,7 \pm 1,0$ и $9,9 \pm 0,8$ день, а начало эпителизации раны наступало на $10,8 \pm 1,0$ и $14,3 \pm 2,0$ день, соответственно ($p < 0,05$) [20].

Грушко В. И. (2008) провел сравнительное исследование эффективности НАП при лечении ран различной локализации. При этом пациентам основной группы выполняли стандартное лечение гнойных ран в дополнении с применением НАП. В качестве инертного газа использовался гелий. Авторами были получены

статистически достоверные результаты, свидетельствующие об эффективности предложенного нового метода. Местный отек тканей у больных основной группы продолжался $1,81 \pm 0,39$ дней, тогда как в контрольной группе $3,4 \pm 1,06$ дня ($p = 0,006$). Раневое содержимое в виде гнойного отделяемого было $1,6 \pm 0,29$ и $3,76 \pm 0,76$ суток в основной и контрольной группе, соответственно ($p < 0,001$). Грануляции в ране появились на $4,5 \pm 0,29$ и $7,13 \pm 0,78$ сутки у пациентов основной и контрольной группы, соответственно ($p < 0,001$) [13].

Хасанов А. Г. (2008) в своем исследовании применил НАП в лечении различных форм рожи и также достоверно подтвердил высокую эффективность предложенного метода [30].

Таким образом, анализ данных научной литературы демонстрирует эффективность НАП при лечении ран различной этиологии. Однако нам не встретились исследования, анализирующие эффективность НАП в лечении послеоперационных ран после различных промежностных колопроктологических операций.

1.6. Лечебная тактика при геморрое

Геморрой – заболевание, которое характеризуется патологическим увеличением геморроидальных узлов (внутренних – внутренней геморрой, наружных – наружной геморрой). Распространённость заболевания в России достаточно высока и составляет 130–145 человек на 1000 взрослого населения, а его удельный вес в структуре заболеваний толстой кишки колеблется от 34 до 41% [33]. По данным других авторов частота встречаемости составляет от 4,4 до 86% [45, 51, 68, 103].

На сегодняшний день известны различные методики лечения геморроя. Консервативное лечение применяется при остром течении заболевания, на ранних стадиях, а также у пациентов с выраженными сопутствующими заболеваниями. Наиболее оправданным методом лечения на 2–4-х стадиях является хирургический. Все хирургические методы можно разделить на инвазивные и малоинвазивные. К инвазивным методам относят открытую и закрытую геморроидэктомию, подслизистую геморроидэктомию, а также геморроидэктомию с применением ультразвукового скальпеля и аппарата LigaSure. Из малоинвазивных методов наиболее

часто применяют склерозирование внутренних геморроидальных узлов, лигирование латексными кольцами, степлерную геморроидопексию, дезартеризацию геморроидальных узлов с/без мукопексии.

Согласно ряду национальных клинических рекомендаций, в том числе и отечественных, пациентам с 3-4-й стадией геморроя методом выбора хирургического лечения является геморроидэктомия [32, 82, 89, 106]. Несмотря на наличие современного медицинского оборудования, после хирургического вмешательства образуется раневая поверхность, которая вызывает болевой синдром и снижает качество жизни человека. Сроки заживления ран после геморроидэктомии до сих пор остаются длительными независимо от метода выполнения этой операции.

При выполнении открытой геморроидэктомии с использованием электрокоагуляции полное заживление ран на 28–30-й послеоперационный день происходит только у 47–76% пациентов [31, 69, 90, 98]. Тогда как с применением гармонического скальпеля послеоперационные раны заживают к этому послеоперационному сроку у 85% пациентов [31, 99].

На 28–30-й день после геморроидэктомии, выполненной аппаратом LigaSure, полное заживлению ран было у 84–98% больных, и только к 6-й неделе после операции отмечается у 100% пациентов [27, 90, 98]. В исследовании, проведенном в ФГБУ «ГНЦК им. А. Н. Рыжих» МЗ РФ (2011), выполнялась геморроидэктомия плазменным скальпелем, заживление раны к 20-му дню отмечалось у 88,2% больных [4]. Однако вышеуказанные методики хирургического лечения требуют больших затрат и использование их в рутинной практике в различных регионах нашей страны не всегда представляется возможным.

1.7. Заключение

Таким образом, достижение науки и техники последних лет привели к созданию новых медицинских технологий и инструментов, которые способствуют сокращению сроков заживления ран. Однако применение различных повязок и физиотерапевтического лечения не всегда представляется возможным для лечения ран после операций на промежности и анальном канале.

Низкотемпературная аргоновая плазма находит все большее применение в медицине. Бесспорным достоинством технологии с применением низкотемпературной аргоновой плазмы следует считать ее мобильность и многофункциональность, бесконтактность использования, «асептичность» процедур во всех режимах, высокую эффективность, отсутствие значимых побочных эффектов и аллергических реакций, простоту использования, низкую стоимость расходных материалов, а также безопасность для медперсонала и пациентов. Результаты исследований показывают, что применение НАП способствует сокращению сроков заживления ран, обладает бактерицидным и бактериостатическим действием, а также снижает уровень болевого синдрома. Но, несмотря на все положительные стороны этой медицинской технологии, на сегодняшний день в научной литературе опубликовано весьма небольшое число исследований, анализирующих эффективность НАП в лечении различных ран. Недостаточна доказательная база применения этой методики. Большая часть клинических исследований носит ретроспективный характер и содержит экспертную оценку, а не основано на проведении рандомизированных исследований.

До сих пор отсутствуют исследования, в которых оценивалась эффективность применения НАП в лечении ран после различных колопроктологических вмешательств на промежности и анальном канале. Все эти обстоятельства демонстрируют необходимость проведения научного рандомизированного исследования, направленного на изучение эффективности и особенностей лечения ран промежности после колопроктологических операций, а именно после открытой геморроидэктомии.

Глава 2. ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ НАБЛЮДЕНИЙ. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АРГОНОВОЙ ПЛАЗМЫ В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

2.1. Дизайн исследования

В период с сентября 2018 года по март 2021 года на базе ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А. Н. Рыжих» Минздрава России было проведено одноцентровое, проспективное, рандомизированное исследование, целью которого являлось улучшение результатов лечения больных с комбинированным геморроем 4-й стадии.

При создании дизайна исследования были сформулированы критерии, согласно которым пациенты включались в исследование.

Критерии включения в исследование:

- комбинированный геморрой 4-й стадии;
- возраст пациентов 18 лет и старше;
- согласие пациента с предложенным планом лечения.

Критерии невключения в исследование:

- пациенты, ранее перенесшие хирургические вмешательства на анальном канале;
- наличие у больного воспалительных заболеваний толстой кишки;
- сопутствующие заболевания перианальной области и анального канала;
- наличие тяжелых соматических заболеваний в стадии декомпенсации;
- сопутствующие психические заболевания.

Критерии исключения:

- нарушение протокола исследования;
- отказ пациента от участия в исследовании на любом этапе, в том числе невыполнение рекомендаций.

При включении в исследование пациент подписывал добровольное согласие на участие, которое включало информацию о предстоящем хирургическом вмеша-

тельстве и возможных послеоперационных осложнениях. Больным была предоставлена подробная информация о клинических эффектах НАП и возможных нежелательных явлениях.

Далее больным выполнялась операция в объеме открытой геморроидэктомии по Миллигану – Моргану при помощи электрокоагуляции. Все больные, которые удовлетворяли критериям включения, рандомизировались методом случайных чисел в основную и контрольную группу с распределением 1 : 1. Пациентам основной группы в послеоперационном периоде обработка раны осуществлялась с применением растворов антисептиков и мазевых повязок, содержащих метилурацил и хлорамфеникол, в дополнение с использованием низкотемпературной аргоновой плазмы. Пациентам контрольной группы в послеоперационном периоде ведение послеоперационной раны осуществлялось только с применением растворов антисептиков и мазевых повязок.

Данное исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А. Н. Рыжих» Минздрава России и зарегистрировано на ClinicalTrials.gov (NCT03907306).

2.2. Характеристика оборудования для образования низкотемпературной аргоновой плазмы

Установка плазменно-дуговая хирургическая для лечения ран «Плазморан» разработана и производится отечественной компанией, зарегистрирована в Реестре медицинских изделий РФ в 2016 году, предназначена для комплексного лечения инфицированных, острых и хронических ран, а также для рассечения и коагуляции тканей, удаления и деструкции нежизнеспособных и патологических изменений тканей в ходе хирургических операций (Рисунок 1).

Установка «Плазморан» имеет регистрационное удостоверение Росздравнадзора от 12.08.2016 № РЗН 2016/4567, зарегистрирована Декларация о соответствии требованиям ГОСТ-Р (до 19.12.2021). Аппарат «Плазморан» имеет 6 режимов: А1, А2, А3, В1, В2, В3. Режим А – с меньшей энергией плазмы, режим В –

с большей. Режим 1 характеризовался меньшей силой потока, 3 – наибольшей. Согласно инструкции, для лечения ран без глубоких полостей рекомендовано применять режим В2.



Рисунок 1 – Установка плазменно-дуговая хирургическая для лечения ран «Плазморан»

Технические характеристики позволяют использовать данный аппарат в амбулаторных хирургических кабинетах и в стационарах для проведения перевязок и операций.

Плазменно-дуговое оборудование преобразует электрическую энергию дугового разряда в тепловую энергию плазмообразующего газа. В плазменно-дуговой установке «Плазморан» плазмообразующим газом является инертный газ аргон. Аргон – это одноатомный инертный газ. В промышленности его получают как побочный продукт при крупномасштабном разделении воздуха на кислород и азот за счет различия в температурах кипения. Поток нагретого газа (аргона), истекающего из отверстия сопла плазмотрона, создает в пространстве небольшую по размерам (0–5 мм) зону ламинарного истечения, с последующим переходом в обширную зону направленного турбулентного движения газа. Повышенная температура газа

и турбулентность потока способствуют на расстоянии 5–7 см от среза сопла интенсивному испарению любых жидкостей с поверхности, на которую оказывается газодинамическое воздействие. Такая возможность бесконтактного осушения раневой поверхности позволяет в ряде оперативных вмешательств существенно уменьшить риск возникновения в отдаленном периоде спаек и деформирующих рубцов.

Непосредственно преобразование энергии осуществляется в плазмотроне, который является рабочим органом плазменно-дугового оборудования. Основной действующий процесс – формирование низкотемпературной плазмы за счет ионизации под воздействием электронной бомбардировки электронами дугового разряда. В области плазмы средняя кинетическая температура составляет 1,5–1,8×10⁴ К. Ее величина зависит от электрической мощности дугового разряда, а также характеристик потока аргона.

Во внешней среде температура газового потока быстро падает. На расстоянии 3–4 см от среза сопла она составляет порядка 100 °С, а 5–7 см – порядка 50–70 °С. При удалении сопла плазмотрона на 10 и более см – не превышает температуры окружающей среды.

Таким образом, функционирование плазменно-дугового оборудования оказывает следующие виды воздействия на окружающую среду и объекты:

- высокая температура, которую иными способами невозможно устойчиво получить в земных условиях, и которая обеспечивает эффективное разложение сложных молекул на простые составляющие, разрушение целостности клеточных слоев, герметизацию сосудов и протоков;

- газодинамический поток аргона, который выносит продукты высокотемпературного разложения органических молекул из зоны воздействия, обеспечивает осушение раневой поверхности в зоне воздействия, а также способствует диффузии аргона в верхние слои биологических тканей. Именно поток газа обеспечивает передачу тепловой энергии из зоны плазмообразования к биологическим тканям за счет энтальпии газа;

- рекомбинационное излучение аргона, которое имеет спектр в диапазоне от 80 до 3000 нм, охватывает ультрафиолетовую, видимую и инфракрасную области

и оказывает специфическое волновое воздействие на биологические ткани. Именно ультрафиолетовое излучение аргоновой плазмы оказывает существенное биофизическое и биохимическое воздействие на биологические ткани и объекты.

Ультрафиолетовое излучение способно проникать в биологические ткани на глубину до 1 мм. В диапазоне 80–86 нм оказывается эффективное воздействие на микроорганизмы, подавляя их способность к размножению и приводя к их гибели. Основной мишенью ультрафиолетовых лучей при этом являются нуклеиновые кислоты, белки и аминокислоты, которые повреждаются за счет фотохимической димеризации, фотогидратации, фотолиза и образования сшивок ДНК-белок.

Примерно в том же диапазоне длин волн ультрафиолетовое излучение воздействует на биологические мембраны в клетках, влияя на их барьерную функцию и увеличивая их проницаемость для различных веществ, в первую очередь, для ионов, что способствует активизации обменных процессов в клетке. Влияние ультрафиолетового излучения на возбудимые мембраны нервных волокон заключается в увеличении порога раздражения и снижении величины потенциала покоя. Кроме того, поглощение ультрафиолета в диапазоне MUV (200–300 нм) приводит к усилению микроциркуляции и повышению содержания гемоглобина в тканях.

2.3. Методика обработки послеоперационной раны воздействием низкотемпературной аргоновой плазмы

Ежедневно пациентам, включенным в исследование, проводились перевязки послеоперационных ран. Согласно протоколу исследования, первая перевязка начиналась с обработки перианальной области физиологическим раствором (NaCl 0,9%) и удалением гемостатической губки с газоотводной трубкой. Раневая поверхность далее просушивалась с использованием стерильной марлевой салфетки. Брался микробиологический посев из раны с использованием тупфера со средой Эймса. Забор мазков-отпечатков для цитологического исследования проводился с применением стерильных поролоновых тампонов, содержимое которых переносилось на предметное стекло. Для определения площади раны к раневой поверхности

прикладывалась прозрачная стерильная пленка размером 3×4 см. Контуры раны переносились на ее поверхность. Вышеуказанные этапы проводились пациентам как основной, так и контрольной группы.

Сеанс низкотемпературной аргоновой плазмы применялся только пациентам основной группы. Аппарат включался и переводился в режим В2. Ручка сопла плазмотрона перемещалась к раневой поверхности.

В зависимости от фазы раневого процесса расстояние от сопла плазмотрона до раневой поверхности было различным (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Плазменный поток

В 1-ю фазу раневого процесса применялось воздействие НАП с расстояния 15 см, тогда как во 2-ю и 3-ю фазы – с 25 см.

Процедура проводилась в течение 4 минут, результатом проводимой терапии являлось состояние осушенной раневой поверхности с характерным матовым блеском, что свидетельствовало об образовании дегидратационной пленки.

После выполнения процедуры только у пациентов основной группы повторно брался микробиологический посев из раны с помощью тупфера со средой Эймса.

Перевязка больных основной и контрольной группы завершалась наложением стерильной марлевой повязки с водорастворимой мазью.

2.4. Общая характеристика клинических наблюдений

Первоначально в исследование были включены 134 пациента, в основную группу – 69 пациентов, в контрольную – 65. Непосредственно после рандомизации были исключены 19 и 14 пациентов основной и контрольной группы из-за нарушения протокола исследования.

После исключения 33 пациентов из протокола, в настоящее проспективное рандомизированное исследование включен 101 пациент с наружным и внутренним геморроем 4-й стадии, которые были пролечены в ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А. Н. Рыжих» Минздрава России. В основной группе было 50 пациентов, в контрольной – 51 больной.

В основной группе пациенты были в возрасте от 24 до 69 лет, медиана составила 46 (39; 56) лет, тогда как возраст больных в контрольной группе составил от 27 до 72 лет, медиана была 47 (40; 55) лет, $p = 0,62$ (Таблица 1). Статистически значимых отличий между группами выявлено не было.

Таблица 1 – Распределение больных по возрасту

<i>Возраст (лет)</i>	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>	<i>P</i>
18–29 лет	4 (8%)	2 (4%)	0,44
30–39 лет	9 (18%)	10 (20%)	1,0
40–49 лет	19 (38%)	18 (35%)	0,84
50–59 лет	10 (20%)	12 (23%)	0,81
60 лет и старше	8 (16%)	9 (18%)	1,0

В основной группе было 33 (66%) мужчины и 17 (34%) женщин, в контрольную группу вошли 29 (57%) мужчин и 22 (43%) женщины, $p = 0,42$ (Таблица 2).

Таблица 2 – Распределение пациентов в группах по полу и ИМТ

<i>Показатели</i>	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>	<i>P</i>
Мужчины	33 (66%)	29 (57%)	0,42
Женщины	17 (34%)	22 (43%)	
ИМТ, кг/м ²	26,6 (23,7; 29,0)	25,5 (23,7; 29,0)	0,27

Соотношение женщин и мужчин в основной группе составило 1 : 1,9, тогда как в контрольной – 1 : 1,3, $p = 0,66$. По данному показателю группы были сопоставимы. Нормальная масса тела (ИМТ 18,5–24,9 кг/м²) диагностирована у 19 (38%) больных основной группы и у 20 (40%) пациентов контрольной группы. Недостаток индекса массы тела (ИМТ) (менее 18,5 кг/м²) был установлен у 1 (2%) пациента в основной и контрольной группе. Избыточная масса тела (ИМТ 25 кг/м² и более) встречалась у 30 пациентов как в основной, так и в контрольной группах. Анализ длительности заболевания у больных обеих групп не выявил статистически значимых различий (Таблица 3). Статистически значимой разницы между группами по показателю ИМТ не было, группы были однородными.

Таблица 3 – Распределение больных в зависимости от длительности анамнеза заболевания

<i>Длительность анамнеза заболевания (лет)</i>	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>	<i>P</i>
0–5 лет	3 (6%)	2 (4%)	0,68
6–10 лет	26 (52%)	31 (61%)	0,43
11–20 лет	14 (28%)	12 (23%)	0,65
21 год и более	7 (14%)	6 (12%)	0,77

При оценке жалоб больных отмечено, что всех пациентов беспокоило увеличение наружных и выпадение внутренних геморроидальных узлов с отсутствием эффекта от ручного вправления (Таблица 4).

Таблица 4 – Распределение больных в зависимости от клинических проявлений геморроя

<i>Жалобы</i>	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>	<i>P</i>
Увеличение наружных геморроидальных узлов	50 (100%)	51 (100%)	1,0
Выпадение внутренних геморроидальных узлов и отсутствие эффекта от ручного вправления	50 (100%)	51 (100%)	1,0
Примесь крови в стуле	46 (92%)	45 (88%)	0,53
Чувство дискомфорта в области заднего прохода	7 (14%)	10 (20%)	0,45
Анальный зуд	2 (4%)	1 (2%)	0,55

Большинство больных отмечали примесь крови в стуле различной степени интенсивности: 46 (92%) пациентов основной и 45 (88%) больных контрольной группы, $p = 0,53$. Чувство дискомфорта в области заднего прохода беспокоило 7 (14%) больных основной группы и 10 (20%) пациентов контрольной группы, $p = 0,45$, в том числе анальный зуд встречался у 2 (4%) пациентов в основной группе и у 1 (2%) больного в контрольной группе, $p = 0,55$. В основной группе сопутствующие заболевания отмечены у 13 пациентов (26%), а в контрольной группе у 15 (29%) больных, $p = 0,7$ (Таблица 5). Анализ данных показал, что наиболее часто встречались заболевания сердечно-сосудистой системы у 7 (14%) и 12 (24%) больных основной и контрольной группы, соответственно, $p = 0,31$. Постоянными курильщиками были 8 (16%) пациентов основной и 12 (24%) больных контрольной групп, $p = 0,46$. У 1 (2%) пациента основной группы и у 2 (4%) больных контрольной группы ранее был диагностирован сахарный диабет 2 типа, $p = 1,0$. Варикозное расширение вен нижних конечностей выявлено у 4 (8%) и 5 (10%) больных основной и контрольной группы, соответственно, $p = 1,0$. Хронический пиелонефрит был диагностирован у 3 (6%) пациентов основной группы и у 1 (2%) больного контрольной группы, $p = 0,36$.

Таблица 5 – Сопутствующие заболевания у пациентов в группах исследования

	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>	<i>P</i>
Болезни сердечно-сосудистой системы	7 (14%)	12 (24%)	0,31
Сахарный диабет	1 (2%)	2 (4%)	1,0
Варикозное расширение вен нижних конечностей	4 (8%)	5 (10%)	1,0
Хронический пиелонефрит	3 (6%)	1 (2%)	0,36
Носительство гепатита В и С	2 (4%)	2 (4%)	1,0
Гипотиреоз	1 (2%)	0 (0%)	0,5
Хронический панкреатит	1 (2%)	0 (0%)	0,5
Всего:	19	22	

Носительство вирусного гепатита В и С встречалось у 2 (4%) больных как основной, так и контрольной группы, $p = 1,0$. Гипотиреоз, хронический панкреатит выявлен у 1 (2%) пациента основной группы.

2.5. Методы обследования

При первичной консультации пациента обращали внимание на анамнез заболевания (длительность заболевания, наличие кровотечений, чувства дискомфорта в анальном канале), а также клинические проявления, такие как примесь крови в стуле, увеличение наружных геморроидальных узлов, выпадение внутренних геморроидальных узлов, нарушение дефекации, дискомфорт в области анального канала, длительность консервативной терапии, а также наличие операций, перенесенных на аноректальной области.

При расчете ИМТ больного, использовалась общепринятая формула Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) (International Obesity Task Force, 1997). ИМТ рассчитывался по формуле: $\text{ИМТ} = \text{вес (кг)} / \text{рост}^2 \text{ (м)}$.

Осмотр пациента проводился в гинекологическом кресле в положении для литотомии. При осмотре перианальной области и анального канала оценивалось состояние кожных покровов (наличие гиперемии, эрозий и язв, свищевых отверстий), смыкание заднего прохода, наличие анального рефлекса, определялись расположение и размеры наружных геморроидальных узлов. В обязательном порядке оценивалась степень выпадения внутренних геморроидальных узлов и возможность их вправления. При пальцевом исследовании определялся тонус внутреннего сфинктера и волевые усилия наружного сфинктера, а также расположение, консистенцию и размер внутренних геморроидальных узлов. Пальцевое исследование анального канала и нижеампулярного отдела прямой кишки у женщин дополняли бимануальным и вагинальным исследованием.

Аноскопию также осуществляли на гинекологическом кресле в положении для литотомии. Использовался одноразовый прозрачный пластиковый аноскоп фирмы ООО «Полимерные изделия» (Россия) с диаметром тубуса 22 мм. Данная манипуляция позволяет прицельно визуализировать структуры анального канала с

внутренними геморроидальными узлами и зубчатой линией, а также слизистую оболочку прямой кишки на протяжении 7 см.

Ректороманоскопию выполняли, используя ректороманоскопы фирмы Karl Storz (Германия) с диаметром тубуса 20 мм, с помощью которого удается осмотреть 25 см толстой кишки.

Перед поступлением в стационар всем пациентам в обязательном порядке проводили исследования: общий клинический и биохимический анализы крови, гемокоагулограмму, общий анализ мочи, ЭКГ и консультация терапевта.

Эндоскопические методы исследования выполнялись в отделении эндоскопической диагностики и хирургии ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А. Н. Рыжих» Минздрава России (руководитель отдела – проф., д. м. н. В. В. Веселов). Всем больным на амбулаторном этапе проводилась плановая колоноскопия с целью исключения других заболеваний толстой кишки. Процедура проводилась при помощи аппаратов Pentax, Fujifilm, Olympus (Япония). Накануне исследования пациенты соблюдали диету и выполняли механическую очистку кишечника при помощи специальных слабительных препаратах, в дозировке, соответствующей массе пациента.

Всем пациентам старше 45 лет, а также с наличием в анамнезе заболеваний пищевода и желудка проводилась эзофагогастродуоденоскопия. Процедура выполнялась при помощи аппаратов Pentax, Olympus (Япония).

Ультразвуковое исследование проводилось в отделении ультразвуковой диагностики ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А. Н. Рыжих» Минздрава России (руководитель отдела – д. м. н. Ю. Л. Трубачева). Всем больным на амбулаторном этапе было выполнено трансректальное ультразвуковое исследование (ТРУЗИ) с целью исключения других заболеваний анального канала и нижеампулярного отдела толстой кишки. Данное исследование позволяет визуализировать структуры анального канала, наружный и внутренний сфинктер, а также выраженность внутренних геморроидальных узлов. С целью подготовки к процедуре накануне вече-

ром и утром в день исследования пациент использовал очистительные клизмы. Исследование проводилось в коленно-локтевом положении. ТРУЗИ выполняли с использованием аппарата Hitachi HI Vision Preimus (Япония).

Макроскопическая оценка послеоперационной раны проводилась на 2-й, 8-й, 14-й, 21-й, 30-й и далее каждые 7 дней до заживления раны. Оценивалась раневая поверхность, а именно наличие фибрина, появление грануляционной ткани, начало краевой или островковой эпителизации. После заживления раны оценивался послеоперационный рубец перианальной области и анального канала. Как фактор объективной контроля выполнялась фотодокументация послеоперационных ран.

Измерение послеоперационных ран выполнялось всем больным на 2-й, 8-й, 14-й, 21-й, 30-й и далее каждые 7 дней до заживления раны. Контуры ран перианальной области наносились на прозрачную пленку размером 3×4 см. Расчёт площади послеоперационных ран осуществлялся при помощи компьютерной программы Ip_square 50. Скорость заживления раны оценивалась с использованием формулы (1) А. Е. Троицы (1984) [14, 17]. Результат показывал на сколько уменьшалась площадь раны в сутки (см²/сутки).

$$V = \frac{S_0 - S_t}{n}, \quad (1)$$

где S_0 – начальная площадь раны;
 S_t – площадь раны в день ее измерения;
 n – число дней.

Изменение площади раны рассчитывали с помощью формулы (2) В. С. Песчанского (1976) [14, 17]. Показатель указывал: на какой процент уменьшилась рана к контрольному дню относительно начальных данных.

$$S = \frac{S_0 - S_t}{S_0} \times 100, \quad (2)$$

где S_0 – начальная площадь раны;
 S_t – площадь раны в день ее измерения.

Микробиологическое исследование выполнялось в отделе изучения микробиологических и иммунологических исследований ФГБУ «НМИЦ колопроктологии

имени А. Н. Рыжих» Минздрава России (руководитель отдела – к. б. н. М. А. Сухина). Всем пациентам после оперативного вмешательства на 2-й, 8-й, 14-й, 21-й, 30-й день и далее каждые 7 дней до заживления раны проводили взятие биоматериала для микробиологического исследования, после обработки послеоперационной раневой поверхности физиологическим раствором (NaCl 0,9%) с помощью тупфера со средой Эймса. Биоматериал от пациентов основной группы забирался дважды (до и после применения низкотемпературной аргоновой плазмы). У больных контрольной группы биоматериал для микробиологического исследования забирался однократно. Полученный биоматериал доставляли в микробиологическую лабораторию, где проводились микробиологические исследования с применением расширенного спектра питательных сред с учетом физиологических потребностей микроорганизмов. Выделение микроорганизмов проводили при различных атмосферных условиях, что обеспечивало рост всех возможных групп бактерий, включая облигатных анаэробов. Окончательную идентификацию выделенных культур проводили с помощью время-пролетного матрично-ассоциированного лазерного масс-спектрометра (MALDI-TOF, Bruker, США). Определение чувствительности к антибактериальным препаратам изолированных клинически значимых штаммов микроорганизмов осуществляли с использованием автоматического бактериологического анализатора WalkAway 96 Plus, (Beckman Coulter) США.

Нами было проведено исследование, в котором оценивалось влияние низкотемпературной аргоновой плазмы (НАП) *in vitro* на формирование и рост бактерий, организованных в биопленочные культуры. У всех штаммов микроорганизмов были изучены факторы патогенности, способность продуцировать гемолизины, биопленкообразование, чувствительность к антибиотикам, а также проводили типирование по генам резистентности у *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*. Определение генов резистентности проводили с помощью молекулярно-генетических методов на ПЦР анализаторе Real-Tim (LightCycler 96 Roche, США). Образование биопленок изучалось у клинических штаммов *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas*

aeruginosa 1000, *Enterococcus faecalis* 453, изолированных из биоматериала пациентов после оперативного вмешательства. Данные штаммы отличались высоким уровнем устойчивости к различным антибактериальным препаратам, а также высоким уровнем биопленкообразования.

Изучение способности НАП предотвращать образование и разрушать зрелые биопленки определяли в тестах *in vitro*. Способность НАП предотвратить образование биопленок исследовали на 24-часовой культуре. Биопленки микроорганизмов получали на границе сред стекло/голодный бульон, плотность посевной дозы составляла 1,0 McF. Бактериальную взвесь плотностью 1,0 McF и объемом 1 мл наносили на стерильное покровное стекло. Затем проводили процедуру с применением НАП в режиме «В2» в течение 4 минут с расстояния 25 см на биопленочные культуры. После инкубировали при температуре 37 °С 48 часов. После инкубации и серии промывок, фиксировали стекла с помощью 96%-го этилового спирта и окрашивали 1%-м раствором альцианового синего рН-2,0, который позволяет выявить кислые мукополисахариды в матрице биопленки. С помощью микроскопа, обеспечивающего увеличение ×960, проводилась визуализация биопленок на стеклянных носителях.

Разрушение биопленок изучалось на тех же 24-часовых пленочных культурах клинических изолятов микроорганизмов *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas aeruginosa* 1000, *Enterococcus faecalis* 453. Сформированную 24-часовую биопленку на стекле промывали трехкратно стерильной дистиллированной водой, после воздействовали НАП в течении 4 минут в режиме «В2» с расстояния 25 см. Затем биопленки инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 48 часов. После инкубации и серии промывок, стекла фиксировались 96%-м раствором этилового спирта и окрашивались 1%-м раствором альцианового синего рН-2,0, который позволяет выявить в матрице биопленки кислые мукополисахариды. Визуализацию проводили светооптически с применением микроскопа, обеспечивающего увеличение ×960.

Для изучения способности бактерий образовывать биопленки мы использовали критерии оценки, которые основаны на условном разделении биопленочных

культур по плотности и площади покрытия поверхности покровного стекла 24×24 мм:

I степень – отдельно расположенные участки биоплёнок небольших размеров, которые определялись не менее, чем в 3 полях зрения, без формирования сплошного слоя плёнки;

II степень – отдельные интенсивно окрашенные без формирования сплошного слоя фрагменты биоплёнки, которые зачастую связаны между собой и обнаруживаются в каждом из полей зрения;

III степень – крупные интенсивно окрашивающиеся и связанные между собой фрагменты биоплёнки, размеры которых сопоставимы с размерами дефектов;

IV степень – слой биоплёнки, который занимает всю поверхность покровного стекла, без дефектов или с единичными дефектами, не превышающими 1 мм.

Все исследованные культуры образовывали биопленки через 24 часа инкубации, соответствующие III и IV степени.

Цитологическое исследование мазков-отпечатков с поверхности послеоперационной раны (к. м. н. И. В. Воробьева, консультативно-диагностический центр НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского). Всем больным после операции на 2-й, 8-й, 14-й, 21-й, 30-й дни и далее каждые 7 дней до заживления раны производился забор материала для цитологического исследования с целью объективизации течения раневого процесса. При помощи поролонового тампона после обработки послеоперационной раны выполнялся забор материала и наносился на предметное стекло. Цитологический материал доставлялся в лабораторию в ближайшие сроки в специальном контейнере для предметных стекол. К каждому предметному стеклу прикреплялось направление, в котором были указаны личные данные пациента, диагноз, дата операции, а также локализация участка, откуда был взят материал. Мазки отпечатки окрашивались по методу Паппенгейма. Мазок высушивался на воздухе, опускался в фиксатор-краситель Мая – Грюнвальда на 3 минуты. Далее промывался проточной водой, докрашивался азур-эозином: 2 части 0,1%-го раствора азура, 1 часть 0,1%-го раствора водно-растворимого эозина и 3 части дистиллированной воды pH 6,8-7,2, окрашивание 20 минут. Смесь красителей готовится

непосредственно перед работой. После этого стекло промывалось проточной водой и высушивалось на воздухе.

Оценка болевого синдрома и временной нетрудоспособности. Оценка болевого синдрома осуществлялась на 2-й, 3-й, 4-й, 5-й, 6-й, 7-й, 8-й, 14-й, 21-й, 30-й дни и проводилась с помощью 10-бальной визуально-аналоговой шкалы (ВАШ).

Визуально-аналоговая шкала боли для самостоятельной оценки пациентом
 Фамилия пациента _____ Дата операции _____
 Пожалуйста, обведите ОДНУ цифру, соответствующую болевым ощущениям, которые вы испытываете после пробуждения от ночного сна (до введения обезболивающих препаратов).

		<i>Болей нет</i>	<i>Слабые боли</i>		<i>Умеренные боли</i>		<i>Выраженные боли</i>		<i>Сильные боли</i>		<i>Нестерпимые боли</i>	
Обезболивание	Шкала	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	2-й день	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Стул											
	3-й день	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Стул											
	4-й день	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Стул											
	5-й день	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Стул											
	6-й день	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Стул											
	7-й день	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Стул											
	8-й день	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Стул											
	14-й день	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Стул											
	21-й день	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Стул											
	30-й день	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Стул											

Пациент оценивал уровень болевого синдрома ежедневно утром до введения обезболивающего препарата. Также больной отмечал уровень боли во время акта дефекации. Временная нетрудоспособность оценивалась у всех пациентов и рассчитывалась как время с момента операции до полного восстановления трудоспособности.

В послеоперационном периоде со 2-го по 8-й день учитывалось количество введенного обезболивающего препарата, за одну дозу которых принималось 2 мл (100 мг) кетопрофена. Обезболивание пациентов проводилось по необходимости.

Оценка качества жизни. Качество жизни пациентов оценивали с использованием опросника QoL SF-36 (Quality of Life), которая заполнялась пациентом до операции и 30 день после оперативного вмешательства. В данной анкете содержатся вопросы, которые направлены на определение уровня физического и психического компонентов здоровья.

ОПРОСНИК SF-36 (русскоязычная версия, созданная и рекомендованная МЦИКЖ)

1. В целом Вы бы оценили состояние Вашего здоровья (обведите одну цифру)

- Отличное..... 1
 Очень хорошее 2
 Хорошее 3
 Посредственное 4
 Плохое..... 5

2. Как бы Вы в целом оценили свое здоровье *сейчас* по сравнению с тем, что было *год назад* (обведите одну цифру)

- Значительно лучше, чем год назад..... 1
 Несколько лучше, чем год назад..... 2
 Примерно так же, как год назад 3
 Несколько хуже, чем год назад 4
 Гораздо хуже, чем год назад..... 5

3. Следующие вопросы касаются физических нагрузок, с которыми Вы, возможно, сталкиваетесь в течение своего обычного дня. Ограничивает ли Вас состояние Вашего здоровья в настоящее время в выполнении перечисленных ниже физических нагрузок? Если да, то в какой степени? (обведите одну цифру в каждой строке)

	Да, значительно ограничивает	Да, немного ограничивает	Нет, совсем не ограничивает
А. Тяжелые физические нагрузки, такие как бег, поднятие тяжестей, занятия силовыми видами спорта	1	2	3
Б. Умеренные физические нагрузки, такие как передвинуть стол, поработать с пылесосом, собирать грибы или ягоды	1	2	3
В. Поднять или нести сумку с продуктами	1	2	3
Г. Подняться пешком по лестнице на несколько пролетов	1	2	3
Д. Подняться пешком по лестнице на один пролет	1	2	3
Е. Наклониться, встать на колени, присесть на корточки	1	2	3
Ж. Пройти расстояние более одного километра	1	2	3

3. Пройти расстояние в несколько кварталов	1	2	3
И. Пройти расстояние в один квартал	1	2	3
К. Самостоятельно вымыться, одеться	1	2	3

4. Бывало ли за последние 4 недели, что Ваше физическое состояние вызывало затруднения в Вашей работе или другой обычной повседневной деятельности, вследствие чего:

(обведите одну цифру в каждой строке)

	Да	Нет
А. Пришлось сократить количество времени, затрачиваемое на работу или другие дела	1	2
Б. Выполнили меньше, чем хотели	1	2
В. Вы были ограничены в выполнении какого-либо определенного вида работ или другой деятельности	1	2
Г. Были трудности при выполнении своей работы или других дел (например, они потребовали дополнительных усилий)	1	2

5. Бывало ли за последние 4 недели, что Ваше эмоциональное состояние вызывало затруднения в Вашей работе или другой обычной повседневной деятельности, вследствие чего

(обведите одну цифру в каждой строке)

	Да	Нет
А. Пришлось сократить количество времени, затрачиваемого на работу или другие дела	1	2
Б. Выполнили меньше, чем хотели	1	2
В. Выполнили свою работу или другие. Дела не так аккуратно, как обычно	1	2

6. Насколько Ваше физическое и эмоциональное состояние в течение последних 4 недель мешало Вам проводить время с семьей, друзьями, соседями или в коллективе?

(обведите одну цифру)

- Совсем не мешало 1
 Немного 2
 Умеренно 3
 Сильно 4
 Очень сильно 5

7. Насколько сильную физическую боль Вы испытывали за последние 4 недели?

(обведите одну цифру)

- Совсем не испытывал(а) 1
 Очень слабую 2
 Слабую 3
 Умеренную 4
 Сильную 5
 Очень сильную 6

8. В какой степени боль в течение последних 4 недель мешала Вам заниматься Вашей нормальной работой (включая работу вне дома или по дому)? (обведите одну цифру)

- Совсем не мешала 1

- Немного2
 Умеренно3
 Сильно4
 Очень сильно5

9. Следующие вопросы касаются того, как Вы себя чувствовали и каким было Ваше настроение в течение последних 4 недель. Пожалуйста, на каждый вопрос дайте один ответ, который наиболее соответствует Вашим ощущениям.

(обведите одну цифру)

	Все время	Большую часть времени	Часто	Иногда	Редко	Ни разу
А. Вы чувствовали себя бодрым (ой)?	1	2	3	4	5	6
Б. Вы сильно нервничали?	1	2	3	4	5	6
В. Вы чувствовали себя таким (ой) подавленным (ой) что ничто не могло Вас взбодрить?	1	2	3	4	5	6
Г. Вы чувствовали себя спокойным(ой) и умиротворенным (ой)?	1	2	3	4	5	6
Д. Вы чувствовали себя полным (ой) сил и энергии?	1	2	3	4	5	6
Е. Вы чувствовали себя упавшим (ой) духом и печальным (ой)?	1	2	3	4	5	6
Ж. Вы чувствовали себя измученным (ой)?	1	2	3	4	5	6
З. Вы чувствовали себя счастливым (ой)?	1	2	3	4	5	6
И. Вы чувствовали себя уставшим (ей)?	1	2	3	4	5	6

10. Как часто за последние 4 недели Ваше физическое или эмоциональное состояние мешало Вам активно общаться с людьми (навещать друзей, родственников и т. п.)?

(обведите одну цифру)

- Все время 1
 Большую часть времени..... 2
 Иногда..... 3
 Редко..... 4
 Ни разу..... 5

11. Насколько ВЕРНЫМ или НЕВЕРНЫМ представляются по отношению к Вам каждое из ниже перечисленных утверждений?

(обведите одну цифру в каждой строке)

	Определенно верно	В основном верно	Не знаю	В основном неверно	Определенно неверно
а. Мне кажется, что я более склонен к болезням, чем другие	1	2	3	4	5
б. Мое здоровье не хуже, чем у большинства моих знакомых	1	2	3	4	5
в. Я ожидаю, что мое здоровье ухудшится	1	2	3	4	5
г. У меня отличное здоровье	1	2	3	4	5

2.6. Статистическая обработка результатов

Непрерывные количественные данные в связи с ненормальным распределением описывали медианой, квартилями (Q25; Q75), минимальным и максимальным значениями. Сравнение двух групп проводили с использованием критерия Манна – Уитни. Сравнение частоты показателей проводили критерием Фишера. Статистический анализ проводили в программе Statistica 13.3 ТУВСО США.

2.7. Техника выполнения открытой геморроидэктомии

Хирургическое вмешательство проводили под спинальной анестезией с возможным внутривенным потенцированием в положении для литотомии. Перед выполнением операции проводили троекратную обработку анального канала и кожи промежности 0,5%-м спиртовым раствором хлоргексидина.

После осмотра перианальной области переходили к ревизии анального канала с помощью ректального зеркала. Внутренний геморроидальный узел на 3 часах по у. ц. захватывался зажимом Люэра, подтягивался кнаружи, ножка прошивалась и перевязывалась нитью викрил рапид 1-0. Внутренний и наружный геморроидальный узел отсекали с помощью электрокоагуляции единым блоком. Аналогично выполнялось удаление узлов на 7 и 11 часах (аппарат KLS Martin, Германия) (Рисунок 3).

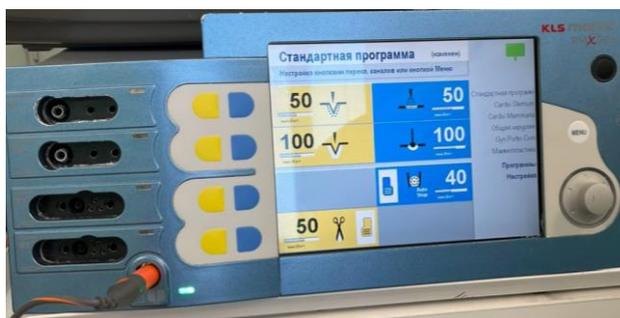


Рисунок 3 – Электрохирургический генератор «Maxium» (KLS Martin, Германия)

Гемостаз осуществлялся с помощью электрокоагуляции после завершения операции, в задний проход вводилась повязка с водорастворимой мазью и газоотводная трубка.

2.8. Послеоперационное ведение пациентов

После хирургического вмешательства, в день операции, все пациенты соблюдали постельный режим. На следующий день больные активизировались, и им назначалась диета № 4. В качестве обезболивающего препарата после операции назначались опиоидные анальгетики. Одна доза наркотических анальгетиков соответствовала 2 мл (100 мг) трамадола гидрохлорина. На вторые сутки пациентам в качестве обезболивающего препарата применялся кетопрофен для внутримышечных инъекций, одна доза составляла 100 мг вещества. В послеоперационном периоде ежедневно проводились перевязки послеоперационной раны, которые включали осмотр и обработки раны раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%, наложение повязки с водоростворимой мазью, содержащей метилурацил и хлорамфеникол. Кроме этого, пациентам основной группы выполнялась обработка послеоперационной раны низкотемпературной аргоновой плазмой с последующим наложением аналогичной мазевой повязки.

Глава 3. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИМЕНЕНИЯ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АРГОНОВОЙ ПЛАЗМЫ В ЛЕЧЕНИИ РАН ПОСЛЕ ОТКРЫТОЙ ГЕМОРРОИДЭКТОМИИ

3.1. Общая характеристика послеоперационного периода

Анализ непосредственных результатов лечения больных с наружным и внутренним геморроем 4-й стадии, перенесших открытую геморроидэктомию с/без применения в послеоперационном периоде низкотемпературной аргоновой плазмы, проведен у 101 пациента.

Непосредственные результаты нами оценивались в течение 45 дней, так как у большинства пациентов после открытой геморроидэктомии полное заживление ран происходит в вышеуказанный период времени.

Всем 50 больным основной группы в качестве комплексного послеоперационного лечения ран применялась низкотемпературная аргоновая плазма, растворы антисептиков и мазевые повязки.

В контрольной группе (51 пациент) при лечении послеоперационных ран использовались только растворы антисептиков и мазевые повязки.

Длительность хирургического вмешательства в основной группе составила 25 (20; 30) минут, а в контрольной – 27 (20; 30) минут, $p = 0,37$.

Интраоперационных осложнений не отмечено ни у одного пациента как в основной, так и в контрольной группе. Во время применения низкотемпературной аргоновой плазмы у пациентов основной группы также не отмечалось каких-либо осложнений и нежелательных явлений, а также возникновение болевого синдрома во время и после процедуры.

3.2. Оценка уровня болевого синдрома

Болевой синдром оценивался со 2-го по 8-й день, далее на 14-й, 21-й и 30-й дни после операции с применением визуально-аналоговой шкалы боли (0–10 баллов) (Рисунок 4).

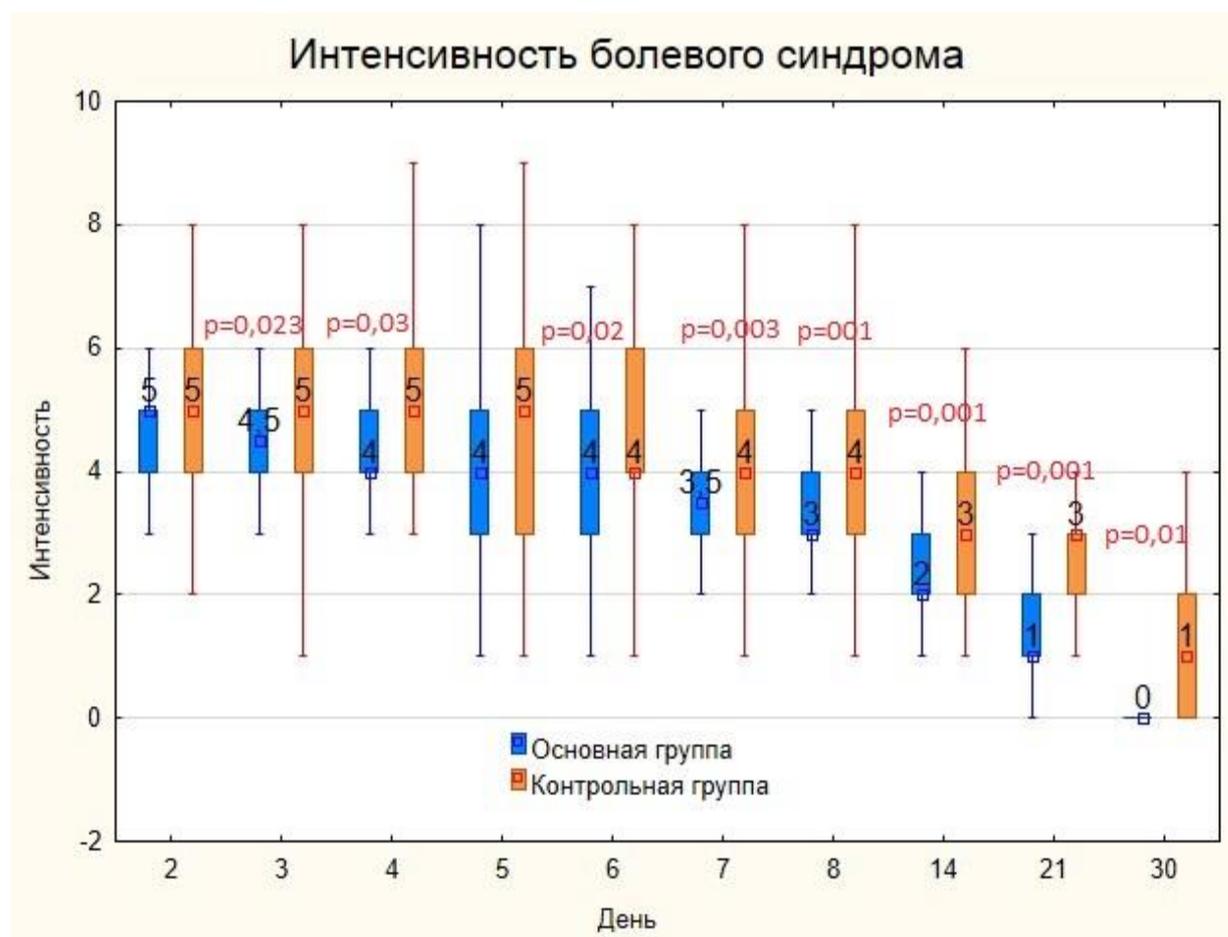


Рисунок 4 – Интенсивность болевого синдрома.

На 2-й день после операции различия между основной и контрольной группами не было, медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) у пациентов составляла 5 (4; 5) и 5 (4; 6) баллов, соответственно, $p = 0,42$. На 3-й день после оперативного вмешательства медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) у больных основной группы была 4,5 (4; 5) балла, тогда как у пациентов контрольной группы – 5 (4; 6) баллов, $p = 0,02$. К 4 дню после операции медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) у пациентов основной и контрольной группы составляла 4 (4; 5) и 5 (4; 6) баллов, соответственно, $p = 0,03$. Уже на 3-й и 4-й дни действие НАП способствовало снижению уровня болевого синдрома, причем разница между группами была статистически значимая. На 5-й день после оперативного вмешательства медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) у больных основной группы была 4 (3; 5) балла, тогда как у пациентов контрольной группы 5 (3; 6) баллов, $p = 0,13$. Несмотря на отсутствие статистической значимой разницы на 5-й день после операции, у паци-

ентов основной группы уровень болевого синдрома был ниже и отмечалась дальнейшая тенденция к его снижению. К 6-му дню после операции медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) у пациентов основной и контрольной группы составляла 4 (3; 5) и 4 (4; 6) баллов, соответственно, $p = 0,02$. Несмотря на равную медиану у пациентов основной и контрольной группы, у большего числа больных контрольной группы был более высокий уровень болевого синдрома. К 7-му дню после операции медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) у больных основной группы была 3,5 (3; 4) балла, тогда как у пациентов контрольной группы – 4 (3; 5) балла, $p = 0,003$. К 8-му дню после операции медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) у пациентов основной и контрольной группы составляла 3 (3; 4) и 4 (3; 5) балла, соответственно, $p < 0,0001$.

На 7-й и 8-й дни после операции у пациентов основной группы уровень болевого синдрома незначительно ниже, однако необходимо отметить, что у большего числа пациентов контрольной группы отмечается более высокий уровень болевого синдрома. На 14-й день после оперативного вмешательства медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) у больных основной группы была 2 (2; 3) балла, тогда как у пациентов контрольной группы 3 (2; 4) балла, $p < 0,001$. К 21-му дню разница в показателях была еще более статистически значимая. Медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) у пациентов основной и контрольной группы составляла 1 (1; 2) и 3 (2; 3) балла, соответственно, $p < 0,001$.

К 30-му дню после операции полное заживление раны произошло у 38 больных (76%) основной группы, соответственно, у них отсутствовал болевой синдром, тогда как у пациентов контрольной группы медиана уровня болевого синдрома составляла 1 (0; 2) балл. Статистически значимая разница по уровню болевого синдрома между основной и контрольными группами отмечена на 3-й, 4-й, 6-й, 7-й, 8-й, 14-й, 21-й, 30-й дни после операции. Это связано с местным анальгезирующим действием УФ излучения, а также уменьшением воспаления в ране и ускорением ее заживления.

В преобладающем большинстве случаев первая дефекация наступила на 4-й день после операции (Таблица 6).

Таблица 6 – Частота дефекации в послеоперационном периоде

<i>День после операции</i>	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>
2-й день	1 (2%)	3 (6%)
3-й день	18 (36%)	23 (45%)
4-й день	38 (76%)	35 (69%)
5-й день	33 (66%)	35 (69%)
6-й день	39 (78%)	46 (90%)
7-й день	43 (86%)	41 (80%)
8-й день	44 (88%)	47 (92%)
14-й день	50 (100%)	51 (100%)
21-й день	50 (100%)	51 (100%)
30-й день	50 (100%)	51 (100%)

Медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) на 4-й день после оперативного вмешательства при акте дефекации составляла 6 (5;7) баллов у больных основной группы и 7 (6; 8) баллов у пациентов контрольной группы, $p = 0,01$ (Таблица 7).

Таблица 7 – Выраженность болевого синдрома при первой дефекации по ВАШ

<i>День после операции</i>	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>	<i>P</i>
2-й день	3	6 (5; 6)	–
3-й день	6 (5; 7)	7 (6; 9)	0,02
4-й день	6 (5; 7)	7 (6; 8)	0,01
5-й день	5 (5; 7)	7 (5; 8)	0,09
6-й день	5 (4; 5)	6 (5; 8)	< 0,001
7-й день	5 (4; 5)	6 (5; 7)	0,003
8-й день	4 (4; 5)	5 (5; 6)	< 0,001
14-й день	3 (3; 4)	4 (4; 5)	< 0,001
21-й день	2 (1; 3)	3 (2; 4)	< 0,001
30-й день	0 (0; 1)	2 (0; 3)	< 0,001

Уже при первой дефекации отмечалось достоверное снижение уровня болевого синдрома у пациентов основной группы. На 14-й день после операции медиана

уровня болевого синдрома при дефекации (Q1–Q3) у пациентов основной группы была 3 (3; 4) балла, а у больных контрольной группы 4 (4; 5) балла, $p < 0,001$. К 21-му дню болевой синдром во время дефекации практически полностью отсутствует у пациентов основной группы, медиана (Q1–Q3) составляла 2 (1; 3) балла, тогда как у больных контрольной группы 3 (2; 4) балла, $p < 0,001$. Таким образом, стоит отметить, что применение низкотемпературной аргоновой плазмы снижало выраженность болевого синдрома при акте дефекации, что благоприятно влияет на послеоперационный период. Каждому пациенту в день операции проводилось обезболивание двукратным внутримышечным введением наркотического препарата (Трамадол 100 мг).

С 2-го по 8-й дни после операции всем пациентам в качестве обезболивающего препарата использовался кетопрофен (1 доза соответствовала 100 мг вещества), препарат вводился внутримышечно по потребности. На 2-й и 3-й дни после операции медиана количества обезболивающего препарата (Q1–Q3) у пациентов основной и контрольной группы была одинаковой и составляла 300 (200; 300) мг, $p > 0,05$ (Таблица 8). Однако уже к 4-му дню после операции разница между группами была статистически значимой, и медиана (Q1–Q3) составляла 200 (200; 300) мг у больных основной группы и 300 (200; 300) мг – у пациентов контрольной группы, $p = 0,04$.

Таблица 8 – Анализ применения количества обезболивающего препарата в основной и контрольной группе

<i>День после операции</i>	<i>Основная группа (n = 50, мг в день)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51, мг в день)</i>	<i>P</i>
2-й	300 (200; 300)	300 (200; 300)	0,89
3-й	300 (200; 300)	300 (200; 300)	0,2
4-й	200 (200; 300)	300 (200; 300)	0,04
5-й	200 (200; 200)	200 (200; 300)	0,02
6-й	200 (200; 200)	200 (200; 300)	0,13
7-й	200 (100; 200)	200 (200; 200)	0,02
8-й	100 (100; 100)	200 (100; 200)	0,002

На 5-й день после операции для обезболивания пациентов основной группы потребовалось применение 200 (200; 200) мг препарата, а для больных контрольной группы 200 (200; 300) мг, $p = 0,02$. Несмотря на равную медиану количества обезболивающего препарата, у большинства пациентов контрольной группы отмечалась большая потребность в обезболивающих препаратах. К 6-му дню после операции количество препарата статистически значимо не отличалось между группами и медиана (Q1–Q3) составляла 200 (200; 200) мг и 200 (200; 300) мг у больных основной и контрольной группы, соответственно, $p = 0,13$. Несмотря на отсутствие разницы медианы необходимого количества препарата, у пациентов основной группы прослеживается тенденция к уменьшению потребности обезболивании. На 7-й день после операции медиана количества обезболивающего (Q1–Q3) препарата у больных основной группы составляла 200 (100; 200) мг, а у больных контрольной группы 200 (200; 200) мг, $p = 0,02$. На 8-й день после операции для обезболивания пациентов основной группы потребовалось применение 100 (100; 100) мг препарата, тогда как больным контрольной группы 200 (100; 200) мг, $p = 0,002$. К 7-му и 8-му дням после операции отмечались более значимые различия между группами в количестве необходимого обезболивающего препарата.

Таким образом, результаты проведенного исследования демонстрируют, что применение низкотемпературной аргоновой плазмы при лечении ран способствует снижению количества необходимого обезболивающего препарата.

3.3. Ранние послеоперационные осложнения

На 2-й день после операции у 3 (6%) пациентов контрольной группы отмечалась рефлекторная задержка мочеиспускания (Таблица 9). Данное состояние купировалось постановкой мочевого катетера. На следующий день мочевой катетер был удален у всех пациентов, мочеиспускание самостоятельно восстановилось.

Таблица 9 – Послеоперационные осложнения на 2-й день после операции

<i>Осложнение</i>	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>	<i>P</i>
Задержка мочеиспускания	0 (0%)	3 (6%)	0,38

Важным показателем является длительность пребывания пациентов в стационаре после операции, которая не отличалась между группами, и медиана (Q1–Q3) составляла 7,0 (7,0; 7,0) дней, $p = 0,2$. Тогда как медиана (Q1–Q3) периода временной нетрудоспособности, которая была значительно короче у пациентов основной группы, составила 18 (13; 22) дней, у контрольной группы – 23 (19; 32) дня, $p < 0,001$. Однако несмотря на равное время нахождения пациентов основной и контрольной групп в стационаре с помощью применения НАП удалось достоверно снизить период временной нетрудоспособности больных за счет периода амбулаторного лечения.

3.4. Клиническая оценка заживления ран после операции

Клиническая оценка заживления раны проводилась путем визуального осмотра послеоперационных ран.

На *2-й день* после оперативного вмешательства состояние послеоперационных ран у пациентов обеих групп было схожим. При макроскопической оценке у всех пациентов основной и контрольной группы в равной степени присутствовали признаки воспаления (гиперемия краев раны, отек тканей) и наличие некротизированных тканей (Рисунок 5).

Основная группа



А

Контрольная группа



Б

Примечание – А. Пациент А, 45 лет (ИБ 969/19). Б. Пациент У, 48 лет (ИБ 2419/19)

Рисунок 5 – Макроскопическая оценка состояния послеоперационных ран.

2-й день после операции

На **8-й день** после операции у пациентов основной группы налет фибрина в области послеоперационных ран отмечен у 16 (32%) пациентов, в то время как в контрольной группе наложения фибрина встречались чаще, у 40 (78%) больных ($p = 0,001$). У 32 (64%) пациентов основной группы наряду с налетом фибрина уже определялись участки грануляционной ткани, что говорит о переходе во вторую фазу заживления раны (Рисунок 6). В контрольной группе подобные явления отмечены значительно реже, у 10 (20%) больных, $p = 0,001$.

Только у 2 (4%) больных основной и 1 (2%) пациента контрольной группы рана была чистая, и в ней преобладала грануляционная ткань, $p = 0,55$, что говорит о полном переходе во 2-ю фазу раневого процесса (Таблица 10).

Таблица 10 – Макроскопическая оценка раны на 8-й день после операции

<i>Состояние послеоперационной раны</i>	<i>Основная группа</i>	<i>Контрольная группа</i>	<i>P</i>
Преобладание фибрина	16 (32%)	40 (78%)	0,001
Наличие фибрина/грануляционной ткани	32 (64%)	10 (20%)	0,001
Преобладание грануляционной ткани	2 (4%)	1 (2%)	0,55

Эти данные говорят о том, что уже к 8 дню после операции у пациентов основной группы прослеживается достоверная тенденция к ускорению заживления раны по сравнению с контрольной группой.



Примечание – А. Пациент А, 45 лет (ИБ 969/19). Б. Пациент У, 48 лет (ИБ 2419/19)
Рисунок 6 – Макроскопическая оценка состояния послеоперационных ран.
 8-й день после операции

В контрольной группе начальные признаки эпителизации встретились лишь у 38 (75%) пациентов, $p = 0,001$.

К **21-му дню** после хирургического вмешательства у всех 50 больных (100%) основной группы констатировано полное отсутствие фибрина и наличие грануляционной ткани в послеоперационной ране. В контрольной группе подобные проявления раневого процесса отмечены у 45 (88%) пациентов, $p = 0,03$ (Таблица 12). А у 6 (12%) пациентов контрольной группы по-прежнему отмечалось наличие фибрина наряду с грануляционной тканью в ране. Данный факт свидетельствует о замедлении очищения раны у этих пациентов.

Таблица 12 – Макроскопическая оценка ран на 21-й день после операции

<i>Состояние послеоперационной раны</i>	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>	<i>P</i>
Преобладание фибрина	0 (0%)	0 (0%)	1
Наличие фибрина/грануляционной ткани	0 (0%)	6 (12%)	0,03
Преобладание грануляционной ткани	50 (100%)	45 (88%)	0,03
Активная эпителизация ран	50 (100%)	46 (90%)	0,06

Активная краевая эпителизация ран выявлена у 50 (100%) пациентов основной и у 46 (90%) больных контрольной группы, $p = 0,06$ (Рисунок 8).

Основная группа



Эпителизация раны

А

Контрольная группа



Краевая эпителизация раны

Б

Примечание – А. Пациент А, 45 лет (ИБ 969/19). Б. Пациент У, 48 лет (ИБ 2419/19)

Рисунок 8 – Макроскопическая оценка раны. 21 день после операции

Таким образом, на 21-й послеоперационный день на фоне применения НАП у всех пациентов основной группы раневой процесс соответствовал 3-й фазе. В то время как среди больных контрольной группы наряду с 3-й фазой заживления раны у 6 (12%) пациентов раневой процесс все еще соответствует 1-й фазе.

На **30-й день** после геморроидэктомии полная эпителизация раны наступила у 38 (76%) больных основной группы, тогда как у пациентов контрольной группы лишь у 19 (37%), $p < 0,001$ (Рисунок 9). Полное очищение раны от налета фибрина у ранее описанных 6 (12%) пациентов контрольной группы наступило лишь на 30-й день после операции.



Примечание – А. Пациент А, 45 лет (ИБ 969/19). Б. Пациент У, 48 лет (ИБ 2419/19)

Рисунок 9 – Макроскопическая оценка раны. 30 день после операции

Таким образом, применение низкотемпературной аргоновой плазмы в лечении ран после открытой геморроидэктомии позволило сократить сроки очищения раны, способствовало появлению грануляционной ткани и более раннему началу краевой и островковой эпителизации раны, что в конечном итоге привело к ускоренному заживлению раны. Увеличение длительности заживления ран у больных контрольной группы по сравнению с основной связано с увеличением продолжительности каждой из трех фаз раневого процесса.

3.5. Сравнительная оценка динамики заживления послеоперационных ран

Для определения площади раны был использован планиметрический метод исследования. Оценка скорости заживления и изменение площади послеоперационных ран рассчитывались по формуле А. Е. Троицы и А. В. Песчанского. Измерение площади раны проводилось на 2-й, 8-й, 14-й, 21-й, 30-й и далее каждые 7 дней до заживления раны.

На 2-й день после операции общая площадь послеоперационных ран была сопоставима в обеих группах, и медиана (Q1–Q3) составляла 2,2 (1,94; 2,45) см² у больных основной группы и 2,2 (1,90; 2,33) см² у пациентов контрольной группы, ($p = 0,49$) (Рисунок 10).

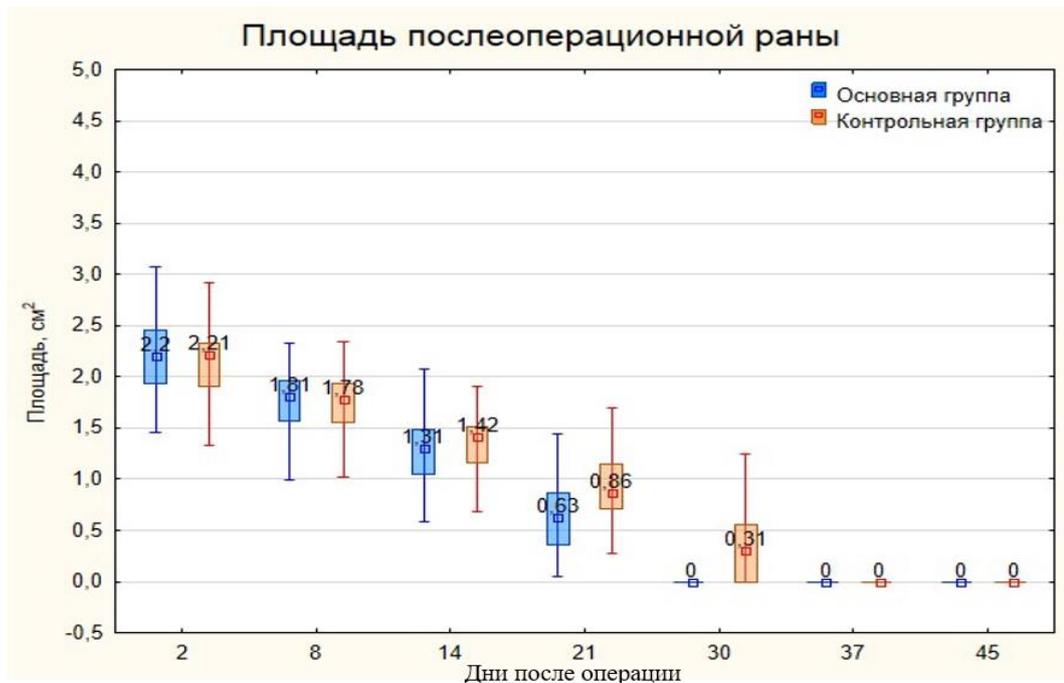


Рисунок 10 – Динамика изменения площади послеоперационных ран на протяжении периода заживления

Также и на 8-й день после операции медиана площади послеоперационных ран (Q1–Q3) у больных основной и контрольной групп существенно не отличалась и составляла 1,81 (1,57; 1,96) см² и 1,78 (1,55; 1,93) см², $p = 0,2$, что вполне объяснимо, так как на этом этапе происходит очищение послеоперационной раны и признаки эпителизации еще не прослеживаются. Но к 14-му дню после операции от-

мечается тенденция к более значимому уменьшению площади раны у больных основной группы. Медиана площади раны (Q1–Q3) у больных основной группы составляла 1,32 (1,07; 1,5) см², а у пациентов контрольной группы 1,42 (1,16; 1,51) см², $p = 0,92$. К 21-му послеоперационному дню разница между группами становится более заметной. У больных основной группы медиана площади раны (Q1–Q3) была 0,63 (0,36; 0,87) см², тогда как у пациентов контрольной группы – 0,86 (0,71; 1,15) см², $p = 0,2$. Однако эти данные статистически незначимые.

На 30-й день у большинства пациентов основной группы произошло полное заживление ран, и медиана их площади (Q1–Q3) составляла 0 (0; 0) см², тогда как у больных контрольной группы – 0,31 (0; 0,55) см², $p = 0,27$.

Таким образом, площадь послеоперационных раны уменьшалась быстрее в основной группе, по сравнению с контрольной, однако эти различия недостоверны.

К 8-му дню у пациентов основной группы медиана уменьшения раны (Q1–Q3) составила 18,5% (12; 23,8), а у больных контрольной группы – 17,8% (9,4; 23,4), $p = 0,62$.

К 14-му дню медиана уменьшения послеоперационной раны (Q1–Q3) у пациентов основной группы составила 41,1 (32,6; 50,0) % и 37,6 (27,4; 45,3) %, соответственно ($p = 0,09$). К 21-му дню после операции площадь раны у больных основной группы достоверно сократилось больше. Медиана (Q1–Q3) равна 72,5 (61,0; 83,4) %, в то время как у пациентов контрольной группы составило 60,4 (50,3; 67,4) %, $p < 0,001$.

На 30-й день после оперативного вмешательства медиана (Q1–Q3) уменьшения раны у пациентов основной группы составила 100 (100; 100) %. Однако в контрольной группе медиана уменьшения раны составила 85,5 (76,5; 100) %, $p < 0,001$.

Скорость заживления раны с 2-го по 8-й дни после операции не отличалась между группами. Медиана скорости заживления раны (Q1–Q3) у пациентов основной и контрольной группы составляла 0,07 (0,04; 0,09) и 0,07 (0,03; 0,09) см²/сутки, соответственно ($p = 0,51$).

С 8-го по 14-й дни скорость заживления раны была выше, причем разница статистически значимая. Медиана (Q1–Q3) равнялась 0,09 (0,05; 0,11) и 0,07 (0,04; 0,09)

см²/сутки у больных основной и контрольной группы, соответственно ($p = 0,02$). Такая же тенденция наблюдалась и с 14-й по 21-й дней после вмешательства. Площадь раны ежедневно уменьшалась на 0,09 (0,06; 0,12) и 0,06 (0,04; 0,09) см²/сутки у больных основной и контрольной группы, соответственно ($p = 0,001$).

С 21-го по 30-й дни после операции различий в скорости заживления раны не было – медиана (Q1–Q3) составляла 0,06 (0,04; 0,08) см²/сутки у пациентов основной группы и 0,06 (0,04; 0,09) см²/сутки – контрольной группы ($p = 0,51$).

Таким образом, результаты планиметрического исследования показали, что воздействие низкотемпературной аргоновой плазмы способствует более быстрому заживлению раны. Если до 8-го дня скорость заживления раны и площадь ее изменения одинаковы в обеих группах, так как на этом послеоперационном периоде происходит очищение раны, признаки эпителизации отсутствуют, и площадь раны существенно не меняется, то с 8-го по 21-й дни после операции установлено достоверное увеличение скорости заживления послеоперационных ран. Это связано с наиболее выраженным действием НАП во второй фазе раневого процесса.

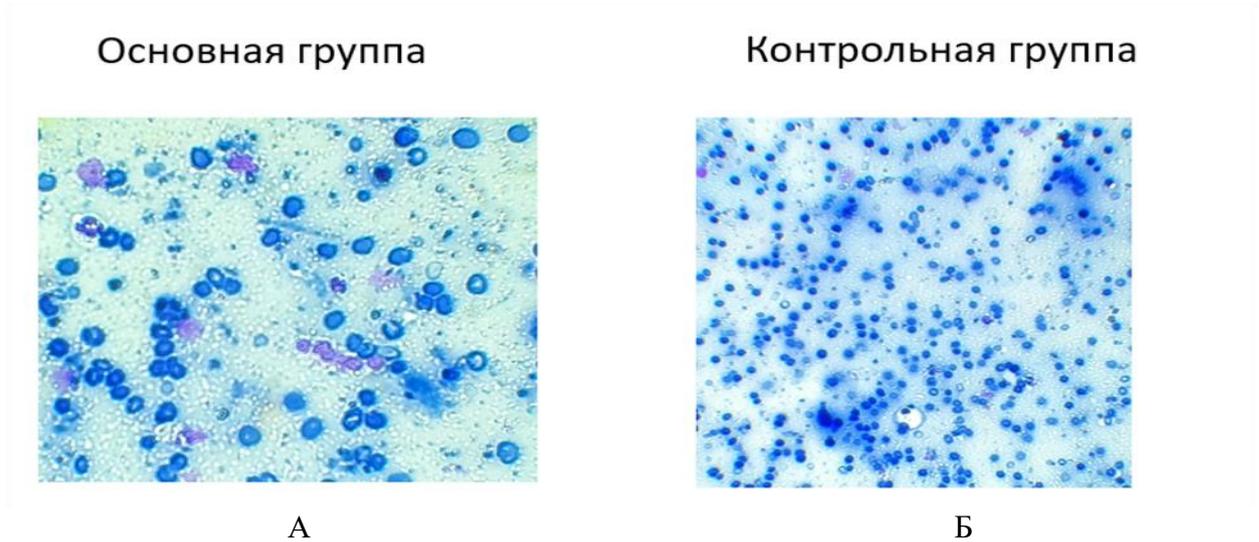
3.6. Сравнительная оценка заживления раны на основании цитологических исследований

Для оценки характера и темпов репарации послеоперационных ран нами проведен сравнительный анализ между группами на основании цитологических исследований. Данный метод применяли на 2-й, 8-й, 14-й, 21-й, 30-й дни и далее каждые 7 дней до полной эпителизации раны.

На **2-й день** после операции по результатам цитологического исследования мазков – отпечатков с поверхности раны у всех пациентов основной и контрольной группы были обнаружены элементы крови, единичные лейкоциты, аморфные массы, скудная кокковая флора (Рисунок 11). Данная цитологическая картина характерна для раннего послеоперационного периода.

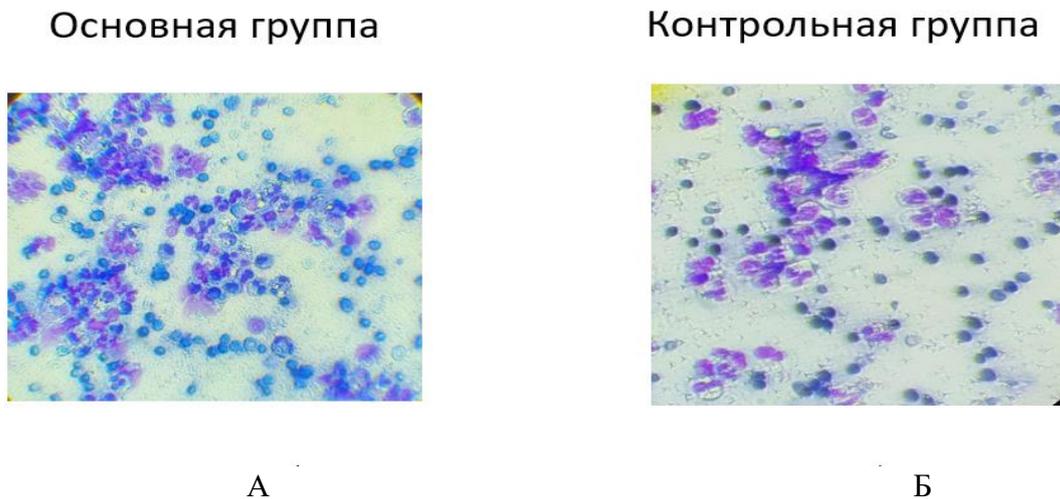
На **8-й день** после оперативного вмешательства в исследуемых группах по-прежнему отсутствовали различия в цитологической картине. В мазках-отпечатках с поверхности раны у всех пациентов основной и контрольной группы преобладали

нити фибрина, элементы крови, умеренное число элементов воспаления нейтрофильного характера (сегментоядерные лейкоциты 90%, лимфоциты 5%, макрофаги 5%) (Рисунок 12). Выявленные цитологические проявления соответствовали 1-й фазе заживления раны.



Примечание – А. Пациент А, 45 лет (ИБ 969/19). Соскоб с поверхности раны на 2-й день после операции. Цитограмма представлена клеточными элементами крови, нитями фибрина. Окрашивание по Паппенгейму. × 400. Б. Пациент У, 48 лет (2419/19). Соскоб с поверхности раны на 2-й день после операции. Цитограмма представлена клеточными элементами крови, нитями фибрина. Окрашивание по Паппенгейму. × 200)

Рисунок 11 – Цитограмма мазков-отпечатков с поверхности послеоперационной раны. 2-й день после операции



Примечание – А. Пациент А, 45 лет (ИБ 969/19). Соскоб с поверхности раны на 8 день после операции. Цитограмма представлена элементами воспаления нейтрофильного характера, единичными макрофаги. Окрашивание по Паппенгейму. × 400. Б. Пациент У, 48 лет (2419/19). Соскоб с поверхности раны на 8 день после операции. Цитограмма представлена элементами воспаления нейтрофильного характера, элементы крови. Окрашивание по Паппенгейму. × 400

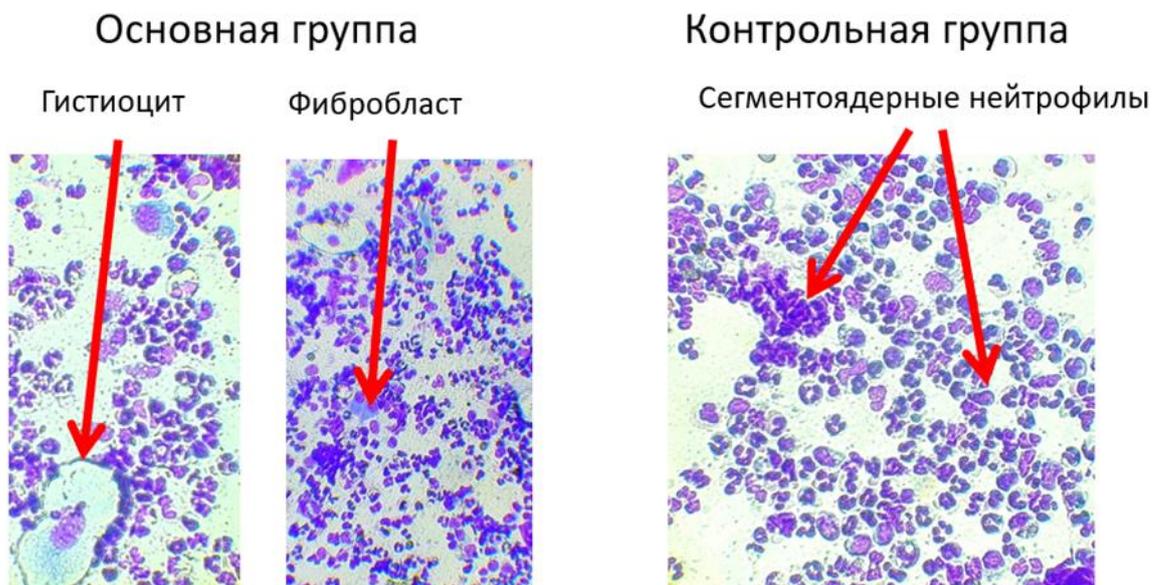
Рисунок 12 – Цитограмма мазков-отпечатков с поверхности послеоперационной раны. 8-й день после операции

На **14-й день** после оперативного вмешательства темпы заживления послеоперационных ран в основной группе начинают существенно опережать подобные процессы в контрольной группе (Таблица 13).

Таблица 13 – Цитологическая картина мазков-отпечатков с поверхности послеоперационной раны на 14-й день после операции

Цитологические проявления	Основная группа (n = 50)	Контрольная группа (n = 51)	P
Преобладание гистиоцитов и фибробластов	47 (94%)	28 (55%)	0,001
Наличие гистиоцитов и фибробластов, а также нитей фибрина	3 (6%)	10 (20%)	0,042
Преобладание нитей фибрина, элементов воспаления	0 (0%)	13 (25%)	0,001

Так в мазках-отпечатках с раневой поверхности у 47 (94%) пациентов основной группы преобладали клетки гистиоцитов и фибробластов, что говорит о более ускоренном переходе процесса заживления во вторую фазу раневого процесса, в то же время среди больных контрольной группы подобные явления выявлены только у 28 (55%) пациентов, $p = 0,001$ (Рисунок 13).



А

Б

Примечание – А. Пациент А, 45 лет (ИБ 969/19). Соскоб с поверхности раны на 14-й день после операции. Цитограмма представлена элементами воспаления нейтрофильного характера, гистиоцитами и фибробластами. Окрашивание по Паппенгейму. $\times 200$. Б. Пациент У, 48 лет (2419/19). Соскоб с поверхности раны на 14 день после операции. Цитограмма представлена элементами воспаления нейтрофильного характера, детрит. Окрашивание по Паппенгейму. $\times 400$

Рисунок 13 – Цитограмма мазков-отпечатков с поверхности послеоперационной раны. 14-й день после операции

Только у 3 (6%) пациентов основной группы в мазках-отпечатках с раневой поверхности наряду с гистиоцитами и фибробластами по-прежнему определялись нити фибрина. В контрольной группе эти проявления раневого процесса проявлялись чаще, у 10 (20%) больных, что говорит о только начинающем переходе с первой фазы раневого процесса во вторую, $p = 0,042$. А у 13 (25%) пациентов контрольной группы в мазках-отпечатках с раневой поверхности все еще преобладали только нити фибрина и элементы воспаления, что свидетельствовало о замедлении процесса заживления, который по-прежнему находился в 1-й фазе раневого процесса, $p = 0,01$.

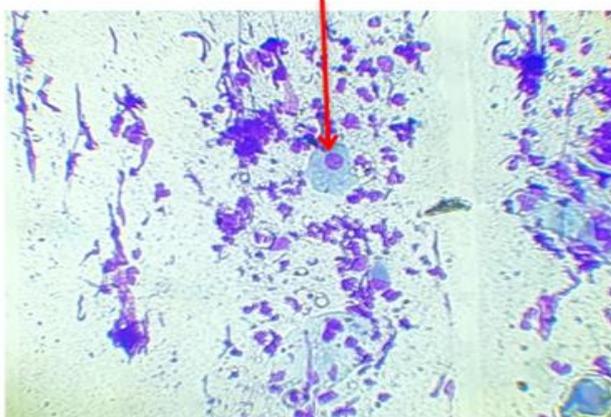
На **21-й день** после операции у подавляющего числа больных, 47 (94%), основной группы процесс заживления перешел в 3-ю фазу раневого процесса, о чем свидетельствует появление в мазках-отпечатках наряду с гистиоцитами и фибробластами также и клеток незрелого плоского эпителия. А среди больных контрольной группы эти явления отмечены значительно реже, только в 28 (55%) случаях, $p = 0,001$ (Таблица 14).

Таблица 14 – Цитологическая картина мазков-отпечатков с поверхности послеоперационной раны на 21-й день после операции

<i>Цитологические проявления</i>	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>	<i>P</i>
Наличие гистиоцитов, фибробластов, клеток незрелого плоского эпителия	47 (94%)	28 (55%)	0,001
Преобладание гистиоцитов и фибробластов	3 (6%)	8 (16%)	0,12
Наличие гистиоцитов и фибробластов, а также нитей фибрина	0 (0%)	15 (29%)	0,001

Только у 3 (6%) пациентов основной группы послеоперационная рана оставалась во 2-й фазе раневого процесса, о чем говорит преобладание в мазках-отпечатках фибробластов и гистиоцитов. В контрольной группе эти явления констатированы у 8 (16%) больных, $p = 0,12$ (Рисунок 14). Кроме этого, у 15 (29%) больных контрольной группы наряду фибробластами и гистиоцитами по-прежнему были обнаружены и нити фибрина, что свидетельствует о только начинающем переходе из первой фазы раневого процесса во вторую, $p = 0,001$.

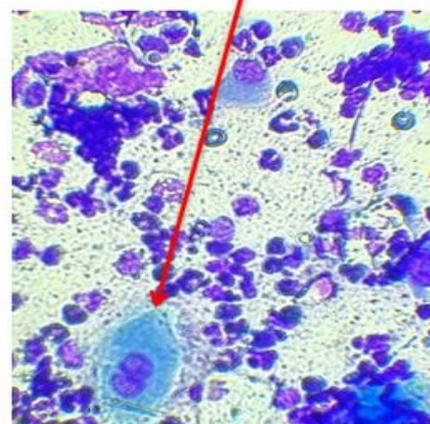
Основная группа

Одноядерный гистиоцит
(фагоцитирующие)

А

Контрольная группа

Двухъядерный гистиоцит



Б

Примечание –А. Пациент А, 45 лет (ИБ 969/19). Соскоб с поверхности раны на 21-й день после операции. Цитограмма представлена элементами воспаления в небольшом количестве, единичными одноядерными гистиоцитами и фибробластами, единичными незрелыми клетками плоского эпителия. Окрашивание по Паппенгейму. $\times 200$. Б. Пациент У, 48 лет (2419/19). Соскоб с поверхности раны на 21-й день после операции. Цитограмма представлена элементами воспаления, многоядерными гистиоцитами. Окрашивание по Паппенгейму. $\times 400$

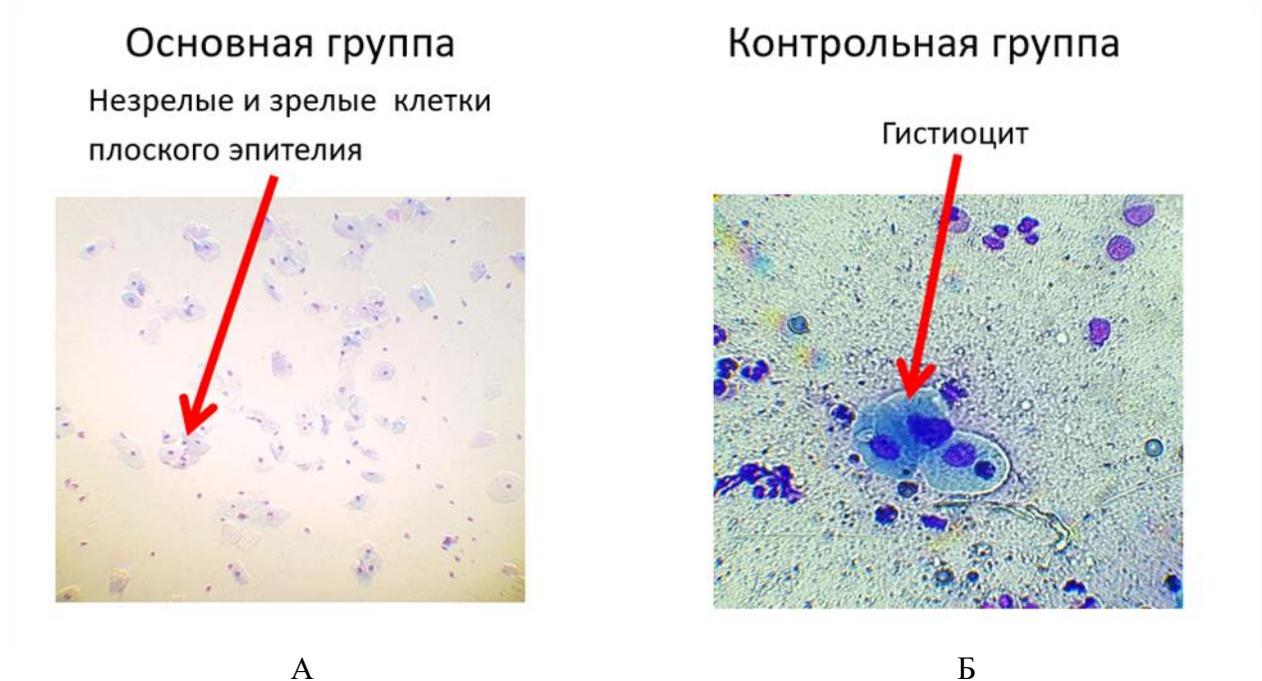
Рисунок 14 – Цитограмма мазков-отпечатков с поверхности послеоперационной раны. 21-й день после операции

На **30-й день** после операции в мазках-отпечатках с раневой поверхности у 38 (76%) пациентов основной группы определялись клетки незрелого и зрелого плоского эпителия, а также полностью отсутствовали признаки воспаления, что указывает на полное заживление раны. Только у 19 (37%) больных контрольной группы согласно цитологическому исследованию также отмечено заживление послеоперационной раны, $p = 0,001$ (Таблица 15).

Таблица 15 – Цитологическая картина мазков-отпечатков с поверхности послеоперационной раны на 30-й день после операции

Цитологические проявления	Основная группа (n = 50)	Контрольная группа (n = 51)	P
Наличие клеток незрелого и зрелого плоского эпителия, отсутствие воспаления	38 (76%)	19 (37%)	0,001
Наличие гистиоцитов, фибробластов, клеток незрелого плоского эпителия	11 (22%)	22 (43%)	0,024
Наличие гистиоцитов и фибробластов	1 (2%)	9 (18%)	0,009
Наличие гистиоцитов и фибробластов, а также нитей фибрина	0 (0%)	1 (2%)	0,32

У 11 (22%) пациентов основной и 22 (43%) больных контрольной групп преобладали гистиоциты, фибробласты и клетки незрелого плоского эпителия, что соответствовало переходу процесса в третью фазу раневого процесса, $p = 0,024$ (Рисунок 15).



Примечание – А. Пациент А, 45 лет (ИБ 969/19). Соскоб с поверхности раны на 30-й день после операции. Цитограмма представлена клетками незрелого и зрелого плоского эпителия. Воспалительный компонент отсутствует. Окрашивание по Паппенгейму. $\times 200$. Б. Пациент У, 48 лет (2419/19). Соскоб с поверхности раны на 30 день после операции. Цитограмма представлена элементами воспаления нейтрофильного характера, гистиоцитами. Окрашивание по Паппенгейму. $\times 400$

Рисунок 15 – Цитограмма мазков-отпечатков с поверхности послеоперационной раны. 30-й день после операции

Только у 1 (2%) больного основной группы по-прежнему преобладали гистиоциты и фибробласты, что характерно для второй фазы раневого процесса. Среди больных контрольной группы подобных пациентов было 9 (18%), $p = 0,009$. Также у 1 (2%) больного контрольной группы к 30 дню после операции в мазках – отпечатках сохранялись нити фибрина, что свидетельствует о значительном замедлении процесса заживления раны.

Только к **37-му дню** после операции темпы репарации послеоперационных ран контрольной группы стали приближаться к показателям основной группы, хотя и имелись все еще значительные различия. У 49 (98%) больных основной группы и

у 41 (80%) пациента контрольной группы определялись клетки незрелого и зрелого плоского эпителия, а также полностью отсутствовали признаки воспаления, что свидетельствует о полной эпителизации послеоперационной раны, $p = 0,005$.

К *45-му дню* у 50 (100%) пациентов основной и у 49 (96%) больных контрольной группы также отмечались клетки незрелого и зрелого плоского эпителия, воспалительная реакция полностью отсутствовала, $p = 0,158$.

Таким образом, на основании проведенного цитологического исследования убедительно продемонстрировано, что скорость раневого процесса значительно выше среди пациентов основной группы по сравнению с контрольной группой. Вторая фаза раневого процесса у пациентов основной группы наступает у 47 (94%) больных уже к 14-му дню после операции. Тогда как у больных контрольной группы переход во вторую фазу к 14-му дню наступает лишь у 28 (55%) пациентов. Третья фаза раневого процесса наступает у 47 (94%) пациентов основной группы к 21-му дню после операции, а у больных контрольной группы – лишь у 28 (55%) больных.

Таким образом, использование низкотемпературной аргоновой плазмы способствует достоверному сокращению сроков заживления послеоперационных ран после открытой геморроидэктомии во всех фазах раневого процесса.

3.7. Оценка качества жизни как критерий для сравнения эффективности комплексного лечения ран после геморроидэктомии

Для оценки качества жизни пациентов основной и контрольной группы применялась анкета Qol SF-36 до операции и на 30-й день после операции. Нами проводился анализ показателей физического и психического здоровья.

До выполнения оперативного вмешательства показатели качества жизни пациентов основной и контрольной групп статистически значимо не отличались. Медиана показателя физического здоровья (Q1–Q3) у пациентов основной и контрольной группах составляла 49 (43; 52) и 45 (40; 53) баллов, соответственно, $p = 0,21$ (Таблица 16).

Таблица 16 – Показатели качества жизни пациентов после открытой геморроидэктомии

<i>Сроки анкетирования</i>	<i>Шкала</i>	<i>Основная группа (n = 50)</i>	<i>Контрольная группа (n = 51)</i>	<i>P</i>
До операции	Физический компонент	49 (43; 52)	45 (40; 52)	0,21
	Психический компонент	44 (39; 56)	42 (35; 48)	0,1
30-й день после операции	Физический компонент	48 (44; 53)	42 (38; 47)	0,001
	Психический компонент	44 (40; 54)	45 (40; 52)	0,5

Медиана (Q1–Q3) показателя психического здоровья соответствовал 44 (39; 56) и 42 (35; 48) баллам в основной и контрольной группах, соответственно, $p = 0,1$. К 30-му дню после операции разница между группами по показателю физическое здоровье достигла статистически значимой разницы. Медиана показателя физического здоровья (Q1–Q3) у пациентов основной группы составила 48 (44; 53) баллов, а в контрольной группе – 42 (38; 47) балла ($p = 0,001$). По уровню психического здоровья даже к 30-му дню статистически значимая разница не была достигнута. Медиана уровня психического здоровья (Q1–Q3) у пациентов основной и контрольной группы составила 44 (40; 54) и 45 (40; 52) баллов, соответственно ($p = 0,5$).

Анализ показателей качества жизни показал, что у пациентов основной группы по сравнению с контрольной показатель физического здоровья к 30-му дню после операции выше. Вероятнее всего, это связано с меньшей выраженностью воспаления и болевого синдрома, а также с лучшим заживлением раны. По уровню психического здоровья достоверной разницы между группами не отмечено.

Анализируя полученные результаты можно сделать вывод, что применение НАП способствует ускорению заживления раны, снижению уровня болевого синдрома, а также улучшению качества жизни после операции и снижает период временной нетрудоспособности пациента.

Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Микробиологическое исследование материала из послеоперационных ран

Микробный пейзаж ран после геморроидэктомии представлен как грампозитивными, так и грамотрицательными бактериями. Для исследования нами было выбрано пять, наиболее часто встречающихся и клинически значимых при лечении ран в аноректальной области, микроорганизмов выделенных с раневых поверхностей пациентов основной и контрольной группы: *Escherichia coli hem+*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis hem+*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*. Нами проведен анализ действия НАП на данные микроорганизмы.

Escherichia coli hem+

На 2-й день после операции у пациентов основной группы *Escherichia coli hem+* до обработки НАП определялась у 29 (58%) пациентов, титр микроорганизма 10^7 КОЕ. Но уже после 1 применения НАП отмечено, что количество микроорганизмов уменьшилось, *Escherichia coli hem+* встречалась у 18 (36%) больных, титр составлял 10^6 КОЕ. У пациентов контрольной группы на 2-й день после оперативного вмешательства *Escherichia coli hem+* встречалась у 24 (47%) пациентов при титре 10^7 КОЕ.

На 8-й день после операции до обработки НАП *Escherichia coli hem+* обнаружена у 41 (82%) основной группы, микробный титр составил 10^7 КОЕ. После обработки НАП частота встречаемости незначительно уменьшилась, *Escherichia coli hem+* выявлена у 39 (78%) больных, однако микробный титр снизился до 10^6 КОЕ. У пациентов контрольной группы на 8-й день после операции *Escherichia coli hem+* встречалась в 38 (75%) случаях, микробный титр составил 10^7 КОЕ. Следует отметить, что, хотя частота встречаемости на этом послеоперационном сроке изменилась незначительно между группами, но обсемененность бактериями после применения НАП в основной группе была меньше по сравнению с контрольной группой.

На 14-й день после геморроидэктомии у пациентов основной группы до применения НАП *Escherichia coli hem+* обнаружена у 35 (70%) больных, микробный

титр 10^7 КОЕ. После применения НАП частота встречаемости *Escherichia coli hem+* уменьшилась до 29 (58%) случаев, титр микроорганизма 10^7 КОЕ. У пациентов контрольной группы *Escherichia coli hem+* выявлена у 36 (71%) пациентов, микробный титр составил 10^6 КОЕ.

На 21-й день после оперативного вмешательства у пациентов основной группы до обработки НАП у 37 (74%) больных была выявлена *Escherichia coli hem+*, титр микроорганизма 10^7 КОЕ. После обработки НАП *Escherichia coli hem+* обнаружена только у 14 (28%) больных, и отмечено снижение титра бактерии до 10^6 КОЕ. У пациентов контрольной группы *Escherichia coli hem+* выявлена у 35 (69%) пациентов обсеменённость раны составила 10^7 КОЕ. То есть на 21-й день после применения НАП отмечается значительное снижение частоты встречаемости бактерии, также отмечается тенденция к снижению обсемененности раны этим видом микроорганизма.

На 30-й день после оперативного вмешательства у пациентов основной группы до обработки послеоперационных ран НАП *Escherichia coli hem+* была выявлена у 8 (16%) больных, титр микроорганизма 10^7 КОЕ. После обработки НАП отмечается значительно снижение титра бактерии. *Escherichia coli hem+* встречалась у 7 (14%) больных в количестве 10^4 КОЕ. У пациентов контрольной группы *Escherichia coli hem+* встречалась у 20 (39%) пациентов, а титр микроорганизма оставался на высоком уровне, 10^7 КОЕ. Таким образом, по полученным данным следует сделать вывод, что НАП обладает бактерицидным действием в отношении *Escherichia coli hem+*.

Enterococcus faecalis

Enterococcus faecalis – грампозитивная бактерия, которая была обнаружена на 2-й день после операции у 6 (12%) больных основной группы до применения НАП, титр которой превышал 10^6 КОЕ ($10^{6,3}$). После применения НАП *Enterococcus faecalis* определялся также у 6 (12%) пациентов, однако титр снизился и составил 10^5 КОЕ. У пациентов контрольной группы *Enterococcus faecalis* обнаружена у 7 (14%) больных, титр микроорганизма 10^6 КОЕ. Как видно из результатов исследования, частота встречаемости микроорганизма не отличается как между группами,

так и до, и после применения НАП. Однако после применения НАП отмечается тенденция к снижению титра бактерии.

На 8-й день после операции *Enterococcus faecalis* до применения НАП не определялась ни в одном случае, однако после применения *Enterococcus faecalis* обнаружена у 1 (2%) пациента в титре 10^4 КОЕ. У больных контрольной группы *Enterococcus faecalis* выявлена у 4 (8%) пациентов, микробный титр 10^5 . Несмотря на появление бактерии после обработки НАП, ее количество значительно меньше, чем на 2-й день после операции и в группе сравнения.

На 14-й день после геморроидэктомии *Enterococcus faecalis* у больных основной группы до и после применения НАП выявлен у 4 (8%) больных, однако титр бактерии отличался между группами и составлял 10^7 КОЕ и 10^6 КОЕ, соответственно. У пациентов контрольной группы *Enterococcus faecalis* обнаружен в 1 (2%) случае в количестве 10^8 КОЕ. Несмотря на большую встречаемость *Enterococcus faecalis* у больных основной группы, у них отмечается снижение титра микроорганизма под воздействием НАП.

К 21-му дню *Enterococcus faecalis* у пациентов основной группы до обработки НАП обнаружен у 1 (2%) больного в количестве 10^5 КОЕ, после применения НАП *Enterococcus faecalis* выявлен у 6 (12%) пациентов, титр бактерии 10^6 КОЕ. У больных контрольной группы *Enterococcus faecalis* обнаружен у 2 (4%) больных, титр микроорганизма 10^8 КОЕ. Титр микроорганизма у пациентов основной группы ниже, по сравнению с контрольной.

На 30-й день после операции *Enterococcus faecalis* у пациентов основной группы до и после обработки НАП встречалась в 3 (6%) случаях, титр бактерии 10^5 КОЕ и 10^7 КОЕ. У больных контрольной группы *Enterococcus faecalis* обнаружена в 2 (4%) случаях, титр бактерии 10^6 КОЕ.

Klebsiella pneumoniae

Бактерия *Klebsiella pneumoniae* является грамотрицательным микроорганизмом и довольно часто является причиной длительно незаживающих ран. На 2-й день после операции у пациентов основной группы до обработки НАП *Klebsiella pneumoniae* обнаружена у 2 (4%) больных, микробный титр 10^7 КОЕ. После обработки

НАП *Klebsiella pneumoniae* не встречалась ни в одном случае. У больных контрольной группы *Klebsiella pneumoniae* обнаружена у 4 (8%) пациентов, микробный титр 10^8 КОЕ.

К 8-му дню после операции грамотрицательный микроорганизм *Klebsiella pneumoniae* до обработки НАП был выявлен у 2 (4%) пациентов, титр бактерии 10^8 КОЕ. После обработки НАП данный микроорганизм не был обнаружен ни у одного пациента. Этим подтверждается выраженное бактерицидное действие НАП по отношению к грамотрицательным микроорганизмам. У пациентов контрольной группы *Klebsiella pneumoniae* была обнаружена у 4 (8%) больных, титр микроорганизма 10^5 КОЕ.

На 14-й день после операции *Klebsiella pneumoniae* у пациентов основной группы до и после применения НАП обнаружена в 1 (2%) случаях в количестве 10^8 КОЕ и 10^7 КОЕ, соответственно. После применения НАП к 14-му дню после операции отмечается снижение титра *Klebsiella pneumoniae*. У больных контрольной группы *Klebsiella pneumoniae* не выявлена ни у одного пациента.

На 21-й день после операции *Klebsiella pneumoniae* у пациентов основной группы до применения НАП выявлена в 2 (4%) случаях, титр микроорганизма 10^8 КОЕ. После использования НАП *Klebsiella pneumoniae* обнаружена у 3 (6%) пациентов, титр бактерии 10^7 КОЕ. У больных контрольной группы *Klebsiella pneumoniae* не выявлена ни в одном случае.

К 30-му дню после операции *Klebsiella pneumoniae* у пациентов основной группы как до, так и после применения НАП не обнаружена ни в одном случае. Тогда как у больных контрольной группы выявлена в 2 (4%) случаях, титр бактерии 10^6 КОЕ. Таким образом, НАП имеет достаточно выраженное антибактериальное действие в отношении *Klebsiella pneumoniae*, что подтверждается ее полным отсутствием к 30-му дню после операции у пациентов основной группы.

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa – грамотрицательный аэробный микроорганизм, который отличается высокой устойчивостью к антибактериальным препаратам. *Pseudomonas aeruginosa* на 2-й день после операции у пациентов основной группы до

применения НАП встречалась в 1 (2%) случаев в титре 10^7 КОЕ. После применения НАП данный микроорганизм не был обнаружен ни у одного пациента, что можно расценивать как бактерицидное действие НАП на этот штамм. У больных контрольной группы *Pseudomonas aeruginosa* не встречался.

На 8-й и 14-й дни после операции *Pseudomonas aeruginosa* не выявлена ни в одном случае у больных основной и контрольной группы. Вероятнее всего, это связано с физиологическими особенностями роста микроорганизма на некротизированных тканях, которые преобладают в ране на 2-й день после операции.

Однако на 21-й день после операции *Pseudomonas aeruginosa* обнаружена у 1 (2%) пациента основной группы после применения НАП, титр микроорганизма $10^{7,0}$ КОЕ.

К 30-му дню после операции *Pseudomonas aeruginosa* не определялась у больных как основной, так и контрольной группы. По результатам проведенного исследования видно, что НАП обладает антибактериальным действием в отношении достаточно устойчивой бактерии *Pseudomonas aeruginosa*, что безусловно влияет на заживление раны.

Staphylococcus epidermidis hem+

Staphylococcus epidermidis hem+ – микроорганизм нормальной флоры кожи человека, однако после хирургического лечения способен вызвать различные инфекционные осложнения. На 2-й день после операции данный микроорганизм не был выявлен ни у одного пациента как основной, так и контрольной группы.

На 8-й день у 1 (2%) пациента основной группы в ране был выделен *Staphylococcus epidermidis hem+*, продуцирующий гемолизины, как до, так после применения НАП, однако микробный титр до обработки раневой поверхности НАП составлял 10^7 КОЕ, а после значительно уменьшился до 10^4 КОЕ. У больных контрольной группы *Staphylococcus epidermidis hem+* не обнаружен ни в одном случае.

К 14-му дню у больных основной группы до обработки НАП *Staphylococcus epidermidis hem+* обнаружен в 2 (4%) случаях, микробный титр 10^5 КОЕ. После об-

работки НАП *Staphylococcus epidermidis hem+* встречался в 1 (2%) случае в количестве 10^6 КОЕ. У пациентов контрольной группы *Staphylococcus epidermidis hem+* выявлен в 3 (6%) случаях, титр микроорганизма 10^6 КОЕ.

До обработки НАП на 21-й день после операции у пациентов основной группы *Staphylococcus epidermidis hem+* был выявлен в 1 (2%) случае в количестве 10^6 КОЕ. После использования НАП *Staphylococcus epidermidis hem+* определялся у 7 (14%) пациентов, титр бактерии 10^5 КОЕ. После применения НАП частота встречаемости стала выше, однако титр бактерии уменьшился. У пациентов контрольной группы *Staphylococcus epidermidis hem+* обнаружен у 4 (8%) пациентов, титр микроорганизма 10^6 КОЕ.

На 30-й день после операции у больных основной группы до обработки НАП *Staphylococcus epidermidis hem+* встретился в 1 (2%) случае в количестве 10^7 КОЕ, однако после применения НАП данный микроорганизм не был выявлен. У пациентов контрольной группы *Staphylococcus epidermidis hem+* также обнаружен в 1 (2%) случае в количестве 10^6 КОЕ. Таким образом, действие НАП обладает также бактерицидным действием и в отношении грамположительных бактерий.

По результатам проведенного микробиологического исследования видно, что НАП обладает бактерицидным действием. Больше это действие выражено в отношении грамотрицательных бактерий (Рисунки 16 и 17).

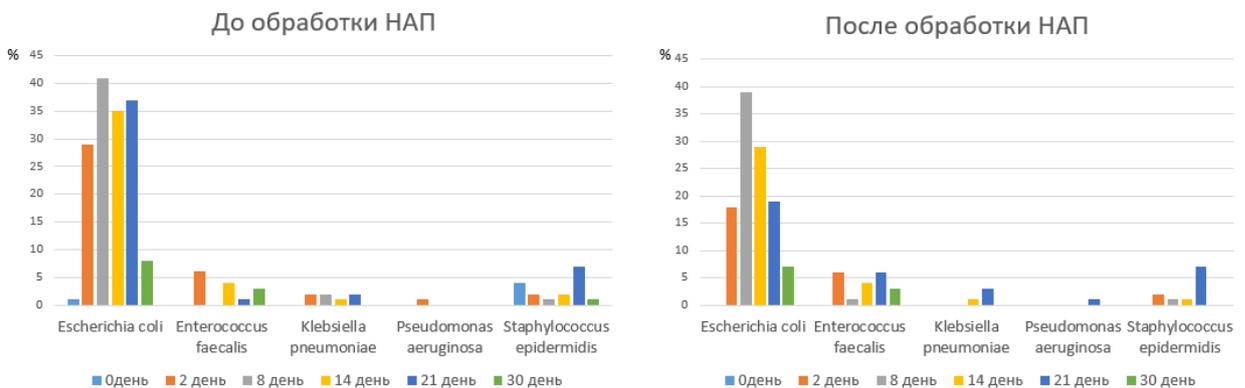


Рисунок 16 – Частота встречаемости микроорганизмов в послеоперационных ранах до и после применения НАП

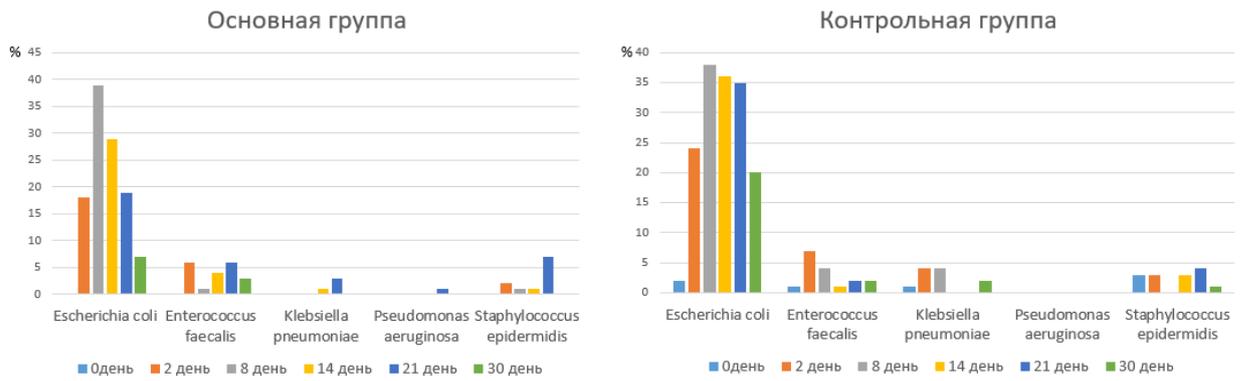


Рисунок 17 – Частота встречаемости микроорганизмов в послеоперационных ранах

В ряде случаев после одного и более проведенного сеанса НАП титр микро-организма до применения НАП ниже, чем в группе сравнения (Рисунки 18 и 19). Данный факт указывает и на бактериостатическое действие НАП.

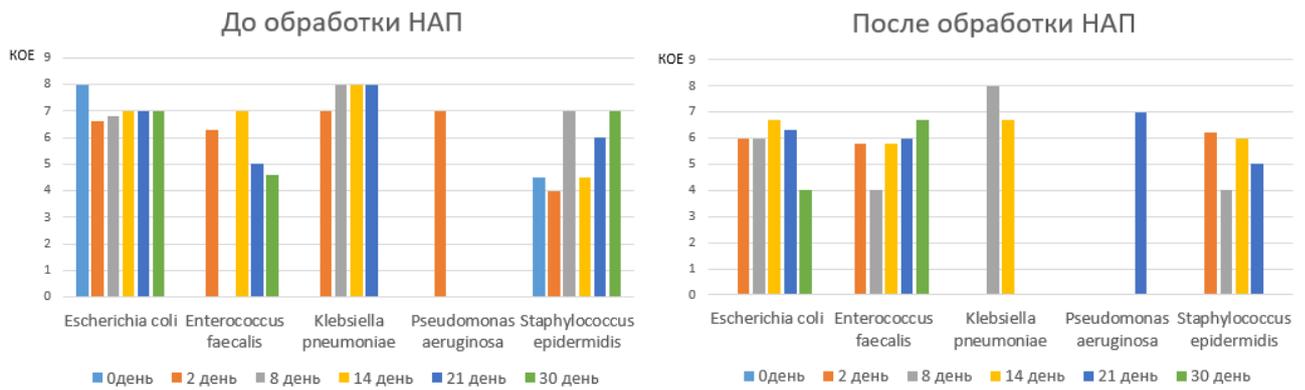


Рисунок 18 – Титр микроорганизмов в послеоперационных ранах до и после применения НАП

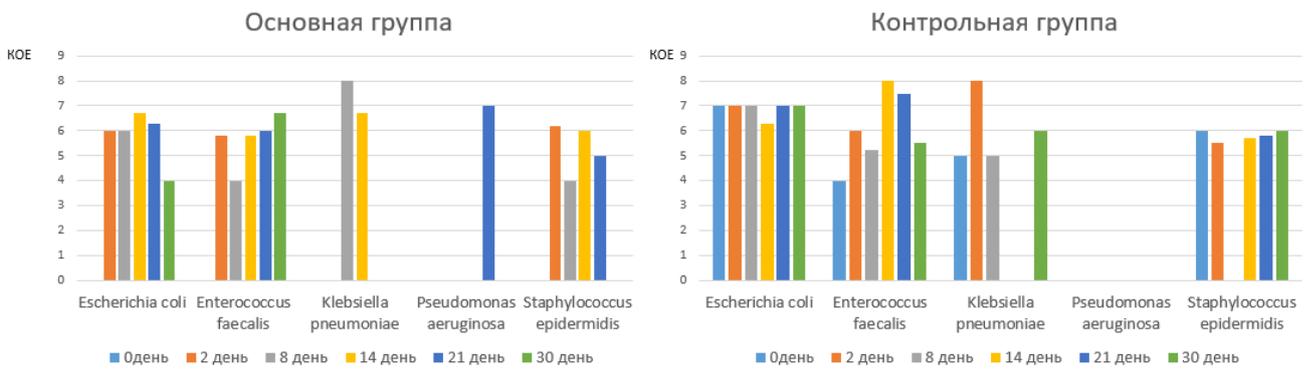


Рисунок 19 – Титр микроорганизмов в послеоперационных ранах

Таким образом, результаты исследования показали, что действие НАП обладает выраженным антибактериальным действием, что подтверждается как снижением частоты встречаемости микроорганизмов, так и снижением их титра.

Для иллюстрации эффективности предложенного метода приводим клиническое наблюдение.

Клинический пример

Больной А. 39 лет ИБ 2868/19. При обследовании в поликлинике по месту жительства у пациента диагностирован наружный и внутренний геморрой 4-й ст. Направлен в консультативную поликлинику ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А. Н. Рыжих» Минздрава России для консультации, обследования и решения вопроса о дальнейшей тактике лечения.

При обращении отмечал жалобы на примесь крови в стуле, а также наличие наружных и выпавших внутренних геморроидальных узлов, не вправляющихся рукой.

Анамнез заболевания: вышеуказанные жалобы от отмечает с 2015 года. Лечился самостоятельно с временным положительным эффектом.

Местный статус: перианальная кожа не повреждена. Анальный рефлекс сохранен. При пальцевом исследовании тонус анального сфинктера, волевые сокращения удовлетворительные. Определяются выпавшие увеличенные внутренние геморроидальные узлы, не вправляющиеся при помощи ручного пособия.

Пациент обследован. Выполнена колоноскопия 25.03.2019. Заключение: без патологических изменений в толстой кишке. ТРУЗИ от 26.03.2019. Заключение: УЗ-признаки геморроя.

Учитывая жалобы пациента, анамнез заболевания, а также данные инструментальных обследований было принято решение о выполнении операции в объеме открытой геморроидэктомии. Больной был рандомизирован в основную группу. До операции пациент был анкетирован с помощью опросник SF-36, по данным которого уровень его физического и психического здоровья составлял, соответственно, 62 и 35 баллов.

Пациенту 02.04.2019 было выполнено оперативное вмешательство в объеме открытой геморроидэктомии. Никаких интра- и послеоперационных осложнений не было отмечено. На 2-й день после операции после удаления мазевой повязки и газоотводной трубки, промывания раны физиологическим раствором (NaCl 0,9%)

больному проводился курс низкотемпературной аргоновой плазмы в течение 4 минут, далее процедуру проводили с 3-го по 8-й день, на 14-й, 21-й и 30-й дни после хирургического вмешательства. Стоит отметить, что во время и после процедуры никаких аллергических и воспалительных реакций не выявлено. Со 2-го дня после операции обезболивание проводилось по требованию кетопрофеном 100 мг в/м. На 2-й день после операции уровень болевого синдрома соответствовал 6 баллам, что потребовало введения 300 мг препарата в сутки, тогда как уже к 8-му дню болевой синдром соответствовал 4 баллам и для обезболивания необходимо было всего 100 мг в сутки. А уже к 14-му дню после операции уровень болевого синдрома во время и без акта дефекации был 3 балла, а к 21-му дню – всего 2 балла. Стоит отметить, что на 30-й день после операции болевой синдром отсутствовал.

При визуальном осмотре на 2-й день после операции присутствовали признаки воспаления (гиперемия краев раны, отек тканей) и наличие некротизированных тканей, а к 8-му дню в раневой поверхности преобладал фибрин и грануляционная ткань. Уже к 14-му дню после операции в ране преобладала грануляционная ткань, а также начиналась краевая эпителизация раны. На 21-й день после хирургического вмешательства происходила активная эпителизация раны, а к 30-му дню отмечалась полная эпителизация раны.

На 2-й день после операции площадь послеоперационной раны была 1,45 см², а к 8-му дню уменьшилась до 1,3 см². К 14-му дню показатель был равен 0,7 см², а на 21-й день 0,6 см². Стоит отметить, что к 30-му дню произошло полное заживление раны.

По данными цитологического исследования на 2-й день после операции в мазках-отпечатках преобладали клетки элементов крови и нити фибрина. К 8-му дню после операции цитограмма была представлена элементами воспаления нейтрофильного характера, единичными макрофагами. Уже к 14-му дню появились клетки гистиоцитов и фибробластов, а также присутствовали элементы воспаления нейтрофильного характера. На 21-й день после операции в цитограмме преобладали гистиоциты и фибробласты, появились клетки плоского эпителия, воспалительная реакция минимальная. А на 30-й день после хирургического вмешательства

преобладали клетки незрелого и зрелого плоского эпителия, воспалительный компонент отсутствовал.

По результатам микробиологического исследования на 2-й день после операции до применения НАП выявлен микроорганизм *Escherichia coli* в титре 10^3 КОЕ, тогда как после применения 10^2 КОЕ. На 8-й день после операции до применения НАП вновь была высеяна *Escherichia coli* в титре 10^8 КОЕ, тогда как после применения титр уменьшился до 10^7 КОЕ. К 14-му дню после операции титр *Escherichia coli* до применения НАП составил 10^4 КОЕ, тогда как после применения 10^3 КОЕ. К 21-му дню после операции произошла смена микроорганизма и был выявлен *Staphylococcus hominis* в титре 10^6 КОЕ, а после применения НАП – 10^5 КОЕ.

Показатели качества жизни на 30-й день после операции по показателю физического и психического здоровья были равны 53 и 54 баллам, соответственно. При этом стоит отметить, что пациент приступил к работе на 14-й день после операции.

4.2. Применение низкотемпературной аргоновой плазмы на биопленки бактерий *in vitro*

Известно, что бактерии на поверхности образуют биопленки, которые состоят из микроорганизмов и межклеточного матрикса. Биопленки служат резервуаром для развития инфекции и способствуют развитию и распространению резистентности бактерий к антибиотикам. В биопленочных сообществах микроорганизмы обмениваются друг с другом различной генетической информацией, что приводит к резистентности к антибактериальным препаратам и замедляет заживление раны.

Нами проведено изучение действия НАП на формирование и рост биопленок. Исследование проводилось на клинических штаммах микроорганизмов *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas aeruginosa* 1000, *Enterococcus faecalis* 458, изолированных из биоматериала пациентов после оперативного вмешательства. Данные штаммы характеризовались высоким уровнем резистентности к различным антибактериальным препаратам (более чем к 10) (Таблица 17).

Таблица 17 – Резистентность микроорганизмов к антибактериальным препаратам

	<i>Escherichia coli</i> hem+ 317	<i>Klebsiella pneu-</i> <i>moniae</i> 458	<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i> 458	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> 1000
Амикацин	R	S	н/д	R
Амоксициллин / Клавулановая кислота	R	R	R	R
Ампициллин/Сульбактам	R	R	R	R
Ампициллин	R	R	R	R
Азтреонам	R	R	н/д	R
Цефазолин	R	R	R	R
Цефепим	R	R	н/д	R
Цефотаксим	R	R	н/д	R
Цефотаксим/К	R	R	н/д	R
Цефокситин	R	R	н/д	R
Цефтазидим	R	R	н/д	R
Цефтазидим/К	R	R	н/д	R
Цефтриаксон	R	R	R	R
Цефуросим	R	R	н/д	R
Хлорамфеникол	н/д	н/д	R	н/д
Клиндамицин	н/д	н/д	R	н/д
Даптомицин	н/д	н/д	R	н/д
Эритромицин	н/д	н/д	R	н/д
Цефалотин	R	R	н/д	R
Ципрофлоксацин	R	S	н/д	R
Эртапенем	R	R	н/д	R
Гентамицин	R	S	R	R
Имипенем	R	R	н/д	R
Линезолид	н/д	н/д	S	н/д
Левофлоксацин	R	S	R	R
Моксифлоксацин	н/д	н/д	R	н/д
Меропенем	R	R	R	R
Нитрофуратоин	R	R	R	R

Продолжение таблицы 17

	<i>Escherichia coli hem+ 317</i>	<i>Klebsiella pneumoniae 458</i>	<i>Enterococcus faecalis 458</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa 1000</i>
Пиперациллин/Газобактам	R	R	н/д	I
Пиперациллин	R	R	н/д	R
Тетрациклин	R	R	R	R
Тигециклин	R	R	н/д	н/д
Тобрамицин	R	I	н/д	R
Сульфаметоксазол/Триметоприм	R	R	R	R
<i>Примечание – R – устойчивый; I – умеренно-устойчивый; S – чувствительный; н/д – не выполнялось</i>				

Стоит также обратить внимание, что вышеуказанные штаммы обладали генетической резистентностью к антибактериальным препаратам (Таблица 18).

При анализе ПЦР *Escherichia coli hem+ 317* были обнаружены следующие гены резистентности: KPC, OXA-48, NDM, IMP. Данный штамм был устойчив к действию оксациллина, карбопенемов и В-лактамовых антибиотиков широкого спектра действия.

Таблица 18 – Генетическая резистентность микроорганизмов к антибактериальным препаратам

Ген	<i>Escherichia coli hem+ 317</i>	<i>Klebsiella pneumoniae 458</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa 1000</i>
KPC	+	+	-
OXA-48	+	+	+
NDM	+	+	-
IMP	+	-	-
VIM	-	-	-

Чуть менее устойчивой оказался штамм *Klebsiella pneumoniae 458*. Были обнаружены гены KPC, OXA-48, NDM, что, в свою очередь, свидетельствует об устойчивости штамма к действию оксациллина, карбопенемов и В-лактамовых антибиотиков широкого спектра действия.

Штамм *Pseudomonas aeruginosa 1000* имел ген OXA-48, что доказывает устойчивость к оксациллину

Вышеуказанные микроорганизмы входят в число ведущей кишечной микрофлоры и обладают высоким уровнем биопленкообразования. Мы использовали низкотемпературную аргоновую плазму в качестве ингибирующего фактора формирования биопленок. Методика применялась с расстояния 25 см и в режиме В2. Степень ингибирования формирования биопленок у клинически значимых микроорганизмов имели штаммовые различия (Таблица 19).

Таблица 19 – Степень ингибирования формирования биопленок клинически значимых микроорганизмов

Ингибирующий фактор	Степень формирования биопленки			
	<i>Escherichia coli</i> 317	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 458	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1000	<i>Enterococcus faecalis</i> 458
Контроль	3	3	3	3
НАП	1	1	< 1	2

После применения НАП *Escherichia coli* 317 была способна лишь образовывать отдельно расположенные участки биоплёнок небольших размеров, которые определялись не менее, чем в 3 полях зрения, без формирования сплошного слоя плёнки, что соответствует I степени ингибирования (Рисунок 20).

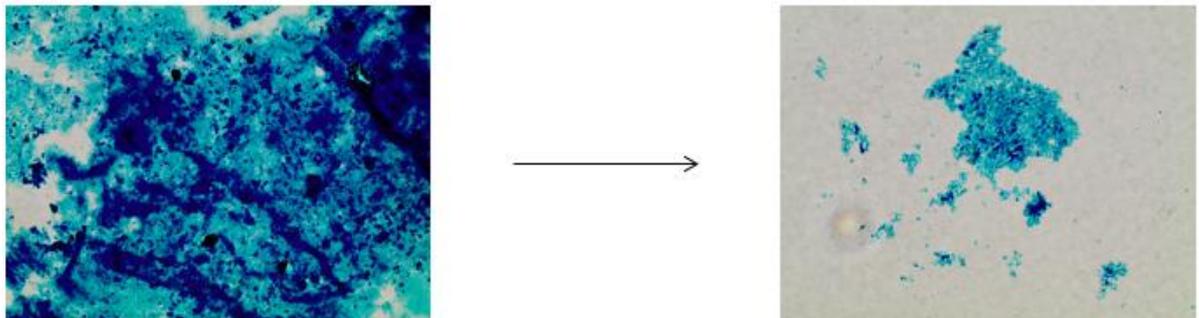


Рисунок 20 – Микрофотография биопленки *Escherichia coli hem+ 317* до и после применения НАП ($\times 900$)

Такие же результаты были получены у штаммов *Klebsiella pneumoniae* 458 и *Pseudomonas aeruginosa* 1000 (Рисунки 21, 22).

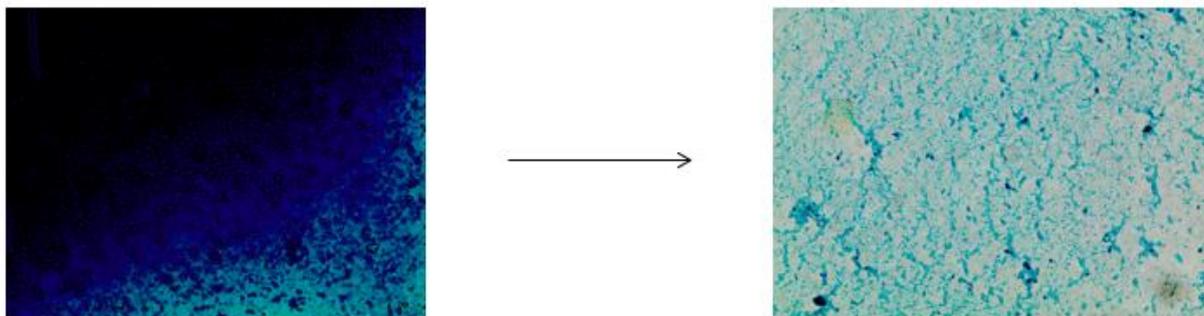


Рисунок 21 – Микрофотография биопленки *Klebsiella pneumoniae* 458 до и после применения НАП ($\times 900$)

Биопленки, образованные *Enterococcus faecalis* 458, были более устойчивы к действию НАП, микроорганизм образовывал отдельные интенсивно окрашенные фрагменты биоплёнки без формирования сплошного слоя, не покрывающие всю площадь стеклянного носителя, что соответствует II степени ингибирования (Рисунок 23).

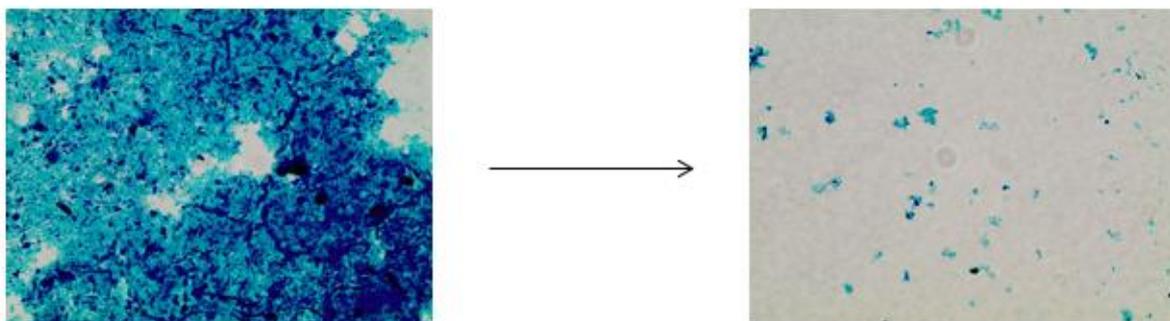


Рисунок 22 – Микрофотография биопленки *Pseudomonas aeruginosa* 1000 до и после применения НАП ($\times 900$)

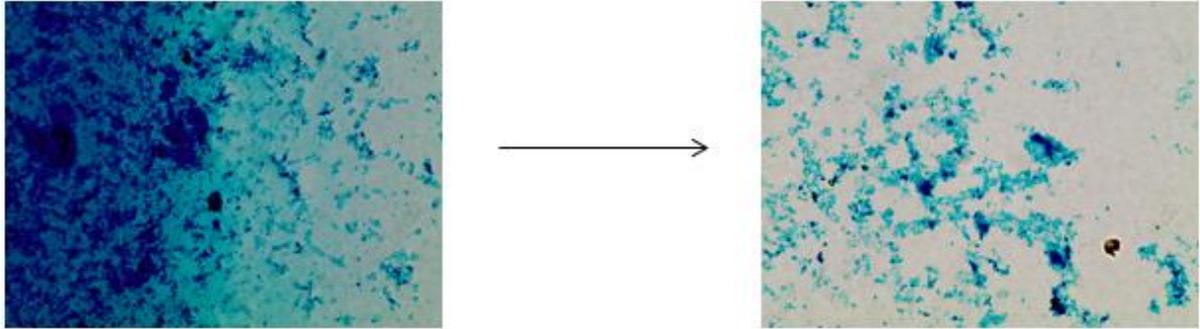


Рисунок 23 – Микрофотография биопленки *Enterococcus faecalis* 458 до и после применения НАП ($\times 900$)

В группе контроля все микроорганизмы образовывали крупные интенсивно окрашенные и связанные между собой фрагменты биоплёнки, размеры которых сопоставимы с размерами дефектов, что соответствует III степени ингибирования.

Полученные данные свидетельствуют о способности плазмы ингибировать формирование биопленки у клинических штаммов микроорганизмов, изолированных от пациентов с раневой поверхностью. При этом наблюдалось бактерицидное и бактериостатическое действие, проявляющееся в зависимости от стадии биофильмогенеза, на которую воздействовали НАП.

Помимо предотвращения формирования биопленки важно найти способ разрушить уже сформированные пленки микроорганизмов. Эффект разрушения биопленок уже сформированной клиническими штаммами *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas aeruginosa* 1000, *Enterococcus faecalis* 458 был оценен при воздействии на них НАП (Таблица 20).

Таблица 20 – Степень разрушения биопленок клинически значимых микроорганизмов

Ингибирующий фактор	Степень формирования биопленки			
	<i>Escherichia coli</i> 317	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 458	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1000	<i>Enterococcus faecalis</i> 458
Контроль	3	3	3	3
НАП	2	2	< 1	1

Воздействие НАП способствовало большему разрушению биопленочной культуры штамма *Pseudomonas aeruginosa* 1000. По данным микроскопии определяются отдельно расположенные участки биопленок небольших размеров, которые визуализировались не менее, чем в 3 полях зрения без формирования сплошного слоя (Рисунок 24).

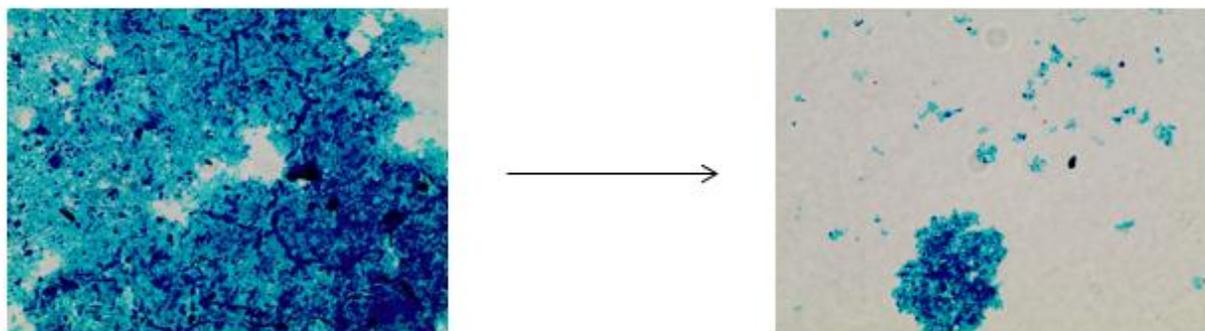


Рисунок 24 – Микрофотография биопленки *Pseudomonas aeruginosa* 1000 до и после применения НАП ($\times 900$)

Похожие результаты были получены при воздействии НАП на *Enterococcus faecalis* 458 (Рисунок 25).



Рисунок 25 – Микрофотография биопленки *Enterococcus faecalis* 458 до и после применения НАП ($\times 900$)

Способность разрушать биопленки штаммов *Escherichia coli* 317 и *Klebsiella pneumoniae* 458 оказалась менее выраженной. Удалось обнаружить отдельные фрагменты биопленки, которые связаны между собой и обнаруживаются в каждом поле зрения (Рисунки 26, 27).

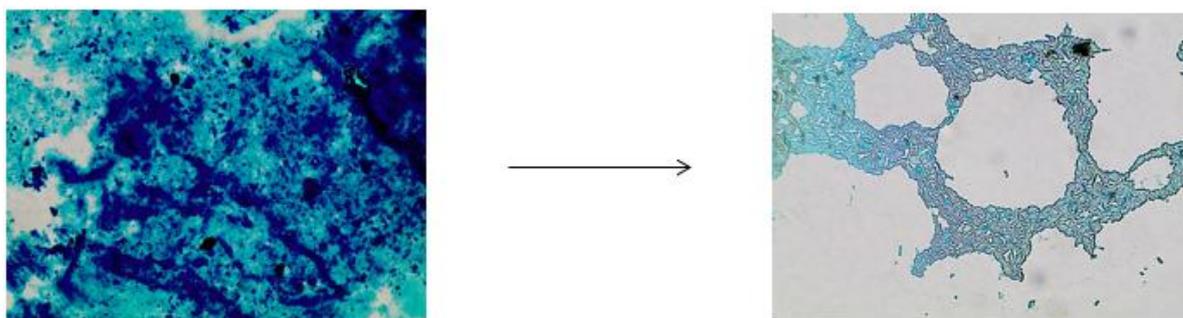


Рисунок 26 – Микрофотография биопленки *Escherichia coli hem+ 317* до и после применения НАП (×900)

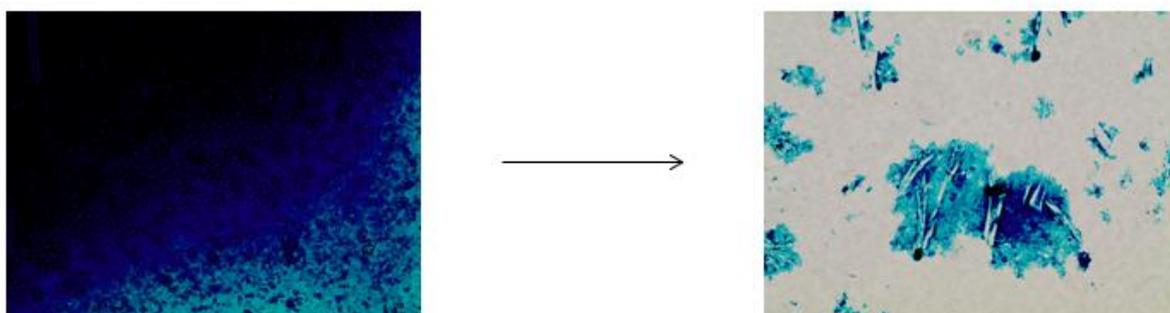


Рисунок 27 – Микрофотография биопленки *Klebsiella pneumoniae 458* до и после применения НАП (×900)

По результатам проведенного микробиологического исследования было доказано, что действие НАП снижает как частоту встречаемости клинически значимых микроорганизмов, так и их титр. Наиболее выраженное действие отмечалось в отношении грамотрицательных бактерий.

Биопленка является сложной трехмерной биологической структурой, способствующей успешному противостоянию внешним факторам воздействия. В нашем исследовании *in vitro* применение НАП позволило как разрушить биопленочную культуру, так и предотвратить ее образование.

Мы полагаем, что применение низкотемпературной аргоновой плазмы при лечении ран может открыть дополнительные возможности для борьбы с инфекцией, ассоциированной с микроорганизмами, организованными в биопленки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хирургическая операция геморроидэктомия по-прежнему является основным эффективным методом лечения 4-й стадии геморроя. После этой операции образуются раны перианальной области, которые несмотря на применение современных медицинских технологий и перевязочных материалов, заживают длительное время. Наличие большого арсенала различных перевязочных материалов не решает эту проблему по причине сложности фиксации их на перианальной области, а также в связи с наличием постоянной контаминацией кишечной микрофлорой. Также в настоящее время имеется много различных физиотерапевтических методов лечения ран, которые способствуют ускорению их заживления. Однако не все они подходят для лечения ран анального канала ввиду необходимости их применения на протяжении длительного времени. Поэтому для ран анального канала оптимальным мог бы считаться метод, который комплексно воздействует на все три фазы раневого процесса, а также обладает выраженным антибактериальным действием. С этой точки зрения хорошо зарекомендовал себя физиотерапевтический метод лечения с применением низкотемпературной аргоновой плазмы (НАП). Однако в настоящее время в специальной медицинской литературе отсутствуют данные о рандомизированных исследованиях, в которых оценивалось бы действие НАП на послеоперационные раны промежности и анального канала. Учитывая все вышесказанное, нами было предпринято исследование, направленное на изучение эффективности НАП на раны после геморроидэктомии.

В ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А. Н. Рыжих» Минздрава России за период с сентября 2018 года по март 2021 года проведено исследование, в котором оценивалось эффективность применения НАП в лечении ран после открытой геморроидэктомии. Итоговый анализ результатов был проведен у 50 пациентов в основной группе с применением НАП и 51 больного в контрольной. Группы были сопоставимы по возрасту, полу и индексу массы тела. Медиана среднего возраста пациентов (Q1–Q3) в основной и контрольной группе составила 46 (39; 56) и 47 (40; 55) лет, соответственно, $p = 0,62$. В основной группе было 33 (66%) мужчины и 17 (34%) женщин, а в контрольной группе 29 (57%) мужчин и 22 (43%) женщины, $p = 0,42$.

Клиническая картина заболевания была сходной в обеих анализируемых группах. Все больные основной и контрольной группы отмечали жалобы на выпадение внутренних с отсутствием эффекта от ручного вправления и увеличение наружных геморроидальных узлов. Большинство обследуемых отмечали выделение крови во время дефекации: 46 (92%) пациентов основной группы и 45 (88%) больных контрольной группы, $p = 0,53$. Чувство дискомфорта в области заднего прохода было 7 (14%) и 10 (20%) пациентов основной и контрольной группы, соответственно, $p = 0,45$. Сопутствующие заболевания были выявлены у 13 (26%) больных основной группы и 15 (29%) пациентов контрольной группы. Группы по данному показателю статистически значимо не отличались, $p = 0,7$.

Всем пациентам исследуемых групп выполнен общий и местный осмотр перианальной области и анального канала, аноскопия. Также всем больным выполнялось трансректальное ультразвуковое исследование и колоноскопия, с целью исключения других заболеваний анального канала и толстой кишки. Больным старше 45 лет, а также имеющих в анамнезе заболевания желудка и двенадцатиперстной кишки выполнялась гастроскопия. Болевой синдром после оперативного вмешательства изучали с помощью визуальной-аналоговой шкалы боли (0–10 баллов). Скорость заживления раны изучали с помощью макроскопического и планиметрического методов исследования. Для объективной оценки темпов заживления ран выполнялось цитологическое исследование. Для оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на клинически значимые микроорганизмы в области послеоперационных ран были проведены микробиологические исследования раневого отделяемого. Качество жизни пациентов оценивали с помощью анкеты SF-36.

Всем пациентам, участвующим в исследовании, выполнено хирургическое вмешательство в объеме открытой геморроидэктомии с применением монополярного электрокоагулятора.

В первую группу рандомизированы 50 пациентов, которым для лечения послеоперационных ран применялась низкотемпературная аргоновая плазма в сочетании с использованием растворов антисептиков и мазевых повязок. Вторую

группу составил 51 больной с традиционным ведением послеоперационного периода, только с применением растворов антисептиков и мазевых повязок. Продолжительность операции у пациентов основной и контрольной группы статистически значимо не отличалась и составляла 25 (20;30) минут, а в контрольной – 27 (20;30) минут, $p = 0,37$. Интраоперационных осложнений не было выявлено как в основной, так и в контрольной группе. Всем пациентам до операции выполнялись осмотр, пальцевое исследование прямой кишки, аноскопия, эндоскопическое исследование толстой кишки, трансректальное ультразвуковое исследование (ТРУЗИ). В послеоперационном периоде проводились оценка послеоперационного болевого синдрома, макроскопическая оценка раны, измерение послеоперационных ран. Скорость заживления раны оценивалась с использованием формулы А. Е. Троицы. Изменение площади раны рассчитывали с помощью формулы В. С. Песчанского. Также выполнялось микробиологическое и цитологическое исследования. Оценка качества жизни осуществлялась при помощи опросников Qol SF-36.

Для проведения курса НАП применялась плазменно-дуговая хирургическая установка для лечения ран «Плазморан», которая разработана и производится отечественной компанией, зарегистрирована в Реестре медицинских изделий РФ в 2016 году. «Плазморан» используется для комплексного лечения инфицированных, острых и хронических ран, а также для рассечения и коагуляции тканей, удалению и деструкции нежизнеспособных и патологически измененных тканей в ходе хирургических операций.

После операции пациентам как основной, так и контрольной групп выполнялись ежедневные перевязки раствором антисептика и мазевыми повязками. Пациентам основной группы в дополнении со 2-го по 8-й дни, а также на 14-й, 21-й, 30-й и далее каждые 7 дней до полного заживления раны проводилась процедура с применением низкотемпературной аргоновой плазмы. Процедура выполнялась в режиме В2 в течение 4 минут. Плазменный поток направлялся на раневую поверхность с расстояния 15 см и 25 см в 1-ю и 2-3-ю фазу раневого процесса, соответственно.

Сравнительный анализ выраженности болевого синдрома у пациентов основной и контрольной группы выявил статистически значимую разницу между показателями. На 2-й день после операции после 1 сеанса применения НАП отмечается тенденция к снижению уровня болевого синдрома у пациентов основной группы, однако статистически значимой разницы между группами не было выявлено. Медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) у пациентов основной и контрольной группы 5 (4; 5) и 5 (4; 6) баллов, $p = 0,42$. Тогда как к 8-му дню медиана уровня болевого синдрома (Q1–Q3) составляла 3 (3; 4) и 4 (3; 5) балла у больных основной и контрольной группы, соответственно, $p < 0,0001$. А к 21-му дню болевой синдром у пациентов основной группы практически полностью отсутствовал и составлял 1 (1; 2) балл, тогда как у больных контрольной группы – 3 (2; 3) балла, $p < 0,0001$. При акте дефекации отмечается снижение уровня болевого синдрома у пациентов основной группы, по сравнению с контрольной. Так, к 4-му дню медиана (Q1–Q3) составляла 6 (5; 7) и 7 (6; 8) баллов у больных основной и контрольной группы, $p = 0,01$. К 30-му дню после операции болевой синдром при акте дефекации у большинства пациентов основной группы отсутствовал 0 (0; 1), тогда как у больных контрольной группы составлял 2 (0; 3) балла, $p < 0,001$. Таким образом, применение НАП снижает уровень болевого синдрома после оперативного вмешательства, в том числе и во время дефекации.

Снижение уровня болевого синдрома привело к уменьшению потребления обезболивающих препаратов. На 2-й день после операции разницы в количестве необходимого обезболивания не было и медиана (Q1–Q3) составляла 300 (200; 300) мг в сутки, $p = 0,89$. На 4-й, 5-й, 7-й и 8-й дни после операции для обезболивания пациентов основной группы требовалось меньшее количество препарата, по сравнению с контрольной группой. На 4-й день медиана количества необходимого препарата (Q1–Q3) для обезболивания больных основной группы составляло 200 (200; 300) мг, а для пациентов контрольной группы 300 (200; 300) мг, $p = 0,04$. К 8-му дню пациентам основной группы потребовалось 100 (100; 100) мг обезболивающего препарата, тогда как больным контрольной группы 200 (100; 200) мг,

$p = 0,002$. Таким образом применение НАП позволило снизить болевой синдром и уменьшить необходимое количество обезболивающего препарата.

Проводя анализ ранних послеоперационных осложнений было выявлено, что рефлекторная задержка мочеиспускания встречалась у 3 (6%) больных контрольной группы и ни у одного пациентов основной, $p = 0,38$. По результатам данного исследования было показано, что применение НАП не влияло на частоту послеоперационных осложнений.

При изучении длительности периода временной нетрудоспособности в анализируемых группах установлено, что после применения НАП этот показатель ниже по сравнению с контрольной группой. Медиана периода временной нетрудоспособности (Q1–Q3) у больных основной группы была меньше, чем у пациентов контрольной группы и составила 18 (13; 22) и 23 (19; 32) дня, $p < 0,001$, хотя медиана времени нахождения пациентов в стационаре статистически значимо не отличалась и составила 7,0 (7,0; 7,0) дней в основной группе, 7,0 (7,0; 7,0) дней в контрольной группе, $p = 0,2$.

Одним из методов изучения заживления раны был макроскопический. К 8-му дню после операции у 32 (64%) пациентов основной группы в ране определялась грануляционная ткань, что говорит о переходе процесса заживления во 2-ю фазу раневого процесса, тогда как у 40 (78%) больных контрольной группы на раневой поверхности преобладали нити фибрина, что указывает на замедление процесса заживления раны. На 14-й день после операции у 38 (74%) пациентов основной группы в ране преобладала грануляционная ткань, а у больных контрольной группы лишь в 18 (35%) наблюдениях. К 21-му дню у 51 (100%) пациента основной группы и у 46 (90%) контрольной группы началась активная эпителизация раны. Полное заживление раны к 30-му дню у пациентов основной группы наступило в 38 (76%) наблюдениях, в контрольной группе лишь в 19 (37%). К 37-му дню полная эпителизация раны наступила у 49 (98%) больных, тогда как в контрольной группе у 41 (80%) пациента. Таким образом, прослеживается тенденция к уменьшению сроков заживления раны у больных основной группы.

Особый интерес представляет изучение ежедневной скорости заживления раны на всех 3 фазах раневого процесса. Со 2-го по 8-й день скорость заживления раны не отличалась между группами и составляла $0,07 \text{ см}^2/\text{сутки}$, $p = 0,51$. Медиана скорости заживления раны (Q1–Q3) с 8-го по 14-й день была выше у пациентов основной группы по сравнению с контрольной и составляла $0,09 (0,05; 0,11)$ и $0,07 (0,04; 0,09) \text{ см}^2/\text{сутки}$, соответственно, $p = 0,02$. С 14-го по 21-й день показатель скорости заживления раны у пациентов основной группы был равен $0,09 (0,06; 0,12)$, тогда как у больных контрольной группы $0,06 (0,04; 0,09) \text{ см}^2/\text{сутки}$, соответственно, $p = 0,001$. Из результатов исследования видно, что максимальная скорость заживления раны была у пациентов основной группы с 8-го по 21-й день после операции, что соответствует 2-й и началу 3-й фазам заживления раны.

При изучении изменения площади послеоперационной раны относительно исходных данных наблюдалась похожая тенденция, как и в скорости заживления раны. На 8-й день после операции результаты между группами статистически значимо не отличалась и медиана (Q1–Q3) составляла $18,5 (12; 23,8) \%$ и $17,8 (9,4; 23,4) \%$ у больных основной и контрольной группы, соответственно, $p = 0,62$. А начиная с 14-го дня, показатель был выше у больных основной группы по сравнению с контрольной и составлял $41,1 (32,6; 50,0) \%$ и $37,6 (27,4; 45,3) \%$, соответственно, $p = 0,09$. К 21-му дню разница между группами была все более значима и составляла $72,5 (61,0; 83,4)$ и $60,4 (50,3; 67,4) \%$ у больных основной и контрольной группы, соответственно, $p < 0,0001$. Полученные результаты были схожи с показателями скорости заживления раны. Несмотря на отсутствие статистически значимой разницы между группами к 14-му дню после операции, отмечается тенденция к увеличению показателя изменения площади раны и ускорению заживления раны.

Для контроля хода процесса заживления раны мы использовали цитологический метод. На 2-й день после операции у больных как основной, так и контрольной группы в мазках-отпечатках с послеоперационной раны преобладали элементы крови и аморфные массы, единичные лейкоциты и кокковая флора. На 8-й день после операции у пациентов обеих групп преобладали нити фибрина, элементы

крови, умеренное число элементов воспаления нейтрофильного характера (сегментоядерные лейкоциты 90%, лимфоциты 5%, макрофаги 5%). На 14-й день после операции у 47 (94%) пациентов основной группы и у 28 (55%) больных контрольной группы в мазках-отпечатках с раневой поверхности преобладали гистиоциты и фибробласты, что свидетельствует о переходе процесса заживления раны во 2-ю фазу, $p = 0,001$. К 21-му дню у 47 (84%) больных основной и у 28 (55%) пациентов контрольной группы в мазках-отпечатках с раневой поверхности преобладали гистиоциты, фибробласты, а также же клетки незрелого плоского эпителия, что может говорить о переходе в 3-ю фазу заживления раны, $p = 0,001$. На 30-й день после оперативного вмешательства у 38 (76%) пациентов и у 19 (37%) больных в мазках – отпечатках определялись клетки незрелого и зрелого плоского эпителия, а также полное отсутствие воспаления, $p = 0,001$. Данные цитологического исследования подтвердили, что действие НАП способствует ускорению заживления раны, причем на всех 3 фазах раневого процесса.

По данным различных авторов НАП обладает выраженным бактерицидным действием на клинически значимые микроорганизмы, в том числе биопленочные культуры. Микробный пейзаж раны был представлен как грампозитивными, так и грамотрицательными микроорганизмами. Нами были выбраны 5 наиболее часто встречаемых и клинически значимых микроорганизмов, являющихся этиологическим агентом воспалительного процесса: *Escherichia coli hem+*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis hem+*. Мы изучали как качественные, так и количественные показатели. На 2-й день после операции у пациентов основной группы до обработки раневой поверхности НАП *Escherichia coli hem+* встречалась в 29 (58%) случаях, титр микроорганизмов 10^7 КОЕ, тогда как после первой процедуры НАП частота встречаемости и количество микроорганизмов уменьшилось. Данный микроорганизм изолировался у 18 (36%) пациентов в титре 10^6 КОЕ. У больных контрольной группы *E. coli hem+* была обнаружена у 24 (47%) пациентов, титр микроорганизма 10^7 КОЕ. Даже после первой процедуры мы видим, что частота встречаемости возбудителя и обсеменённость раны у пациентов основной группы уменьшались. Такая же тенденция

наблюдается на 8-й и 21-й дни после операции. До обработки НАП у пациентов основной группы *E. coli hem+* встречалась в 41 (82%) и 39 (78%) случаев в титрах 10^7 КОЕ и $10^{7.0}$ КОЕ, соответственно. А после обработки НАП на 8-й и 21-й дни после операции *E. coli hem+* была выделена у 39 (78%) и 14 (28%) пациентов, титр микроорганизма 10^6 КОЕ и 10^6 КОЕ, соответственно. Тогда как у больных контрольной группы в те же самые временные промежутки *E. coli hem+* обнаруживалась в 38 (75%) и 35 (69%) случаев, соответственно, обсемененность составляла 10^7 КОЕ в обоих случаях. Анализ данных результатов показывает, что НАП обладает выраженным антибактериальным действием в отношении грамотрицательных микроорганизмов на примере *E. coli hem+*.

Также проведено изучение действия НАП на грампозитивные микроорганизмы, моделью послужил наиболее часто встречающийся *Staphylococcus epidermidis hem+*, продуцирующий гемолизины. На 8-й день после операции до и после применения НАП *Staphylococcus epidermidis hem+* обнаружен у 1 (2%) пациента, обсемененность раны была 10^7 КОЕ и 10^4 КОЕ, соответственно. Исходя из данных результатов, видно, что применение НАП значительно снизило титр микроорганизма. Однако у больных контрольной группы данный микроорганизм не был выявлен. К 21-му дню *Staphylococcus epidermidis hem+* до применения НАП был выделен у 1 (2%) пациента, титр микроорганизма 10^6 КОЕ, тогда как после применения вышеуказанный микроорганизм был обнаружен у 7 (14%) больных, титр микроорганизмов 10^5 КОЕ. В контрольной группе *Staphylococcus epidermidis hem+* был обнаружен в 4 (8%) случаях, обсемененность раны составляла 10^6 КОЕ. Несмотря на увеличение частоты встречаемости микроорганизма у пациентов основной группы после применения НАП произошло снижение титра как в отношении контрольной группы, так в отношении основной группы до применения НАП. Таким образом, по результатам данного исследования было показано, что НАП обладает антибактериальным действием и в отношении грампозитивных микроорганизмов.

Важное значение имеет способность микроорганизмов образовывать биопленки, которые представляют собой сложные многокомпонентные структуры. Биопленки значительно увеличивают сроки заживления раны. Изучение влияния

НАП на формирование и рост биопленки проводилось на штаммах микроорганизмов, взятых из послеоперационных ран пациентов как основной, так и контрольной групп. Данные штаммы обладали высоким уровнем резистентности к антибактериальным препаратам (более чем к 10), обусловленным генетическими характеристиками, высоким уровнем биопленкообразования. В качестве модели были выбраны следующие штаммы: *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas aeruginosa* 1000, *Enterococcus faecalis* 458. При изучении действия НАП на биопленочные культуры *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas aeruginosa* 1000 было показано снижение способности штамма образовывать биопленку, что выражалось в формировании небольших участков биопленок, без образования сплошного слоя, по сравнению с контрольными образцами, которые не подвергались действию НАП. Из выбранных штаммов микроорганизмов *Enterococcus faecalis* 458 оказался более устойчив к действию НАП.

Важным является не только возможность предотвратить образование биопленок, но и способствовать разрушению уже образованных. Из вышеперечисленных штаммов микроорганизмов наиболее подвержен к действию НАП *Pseudomonas aeruginosa* 1000. После обработки 24-часовой биопленочной культуры НАП наблюдалась регрессия биопленки по сравнению с контрольными образцами. Действие на штаммы *Escherichia coli* 317 и *Klebsiella pneumoniae* 458 оказалось менее выраженным. При микроскопии обнаруживались связанные между собой отдельные фрагменты биопленок, которые наблюдались в каждом поле зрения. Таким образом было показана эффективность НАП в способности как предотвратить образование биопленочных культур, так и разрушить уже сформированные, даже у антибиотикорезистентных штаммов.

Результаты, полученные после анкетирования при помощи опросника SF-36, свидетельствуют о том, что до операции показатель физического здоровья у пациентов основной группы был выше и составлял 49 (43; 52) балла, тогда как у больных контрольной группы 45 (40; 52), однако, разница была статистически не значимая, $p = 0,21$. На 30-й день после операции разница между группами достигла статистически значимой разницы. У больных основной группы показатель был 48

(44; 53) баллов, тогда как пациентов контрольной группы 42 (38; 47) балла, $p = 0,001$.

В ходе исследования качества жизни по показателю психическое здоровье не отмечено статистически значимых различий в основной и контрольной группах. До операции у пациентов основной и контрольной группы медиана (Q1–Q3) была равна 44 (39; 56) и 42 (35; 48) баллам, соответственно, $p = 0,1$. На 30-й день после операции вышеописанный медиана (Q1–Q3) не отличалась между группами и равнялся 44 (40; 54) и 45 (40; 52) баллам у больных основной и контрольной группы, соответственно, $p = 0,5$. По результатам проведенного нами исследования было доказано, что применение НАП улучшает качество жизни пациентов по показателю физическое здоровье, разницы по уровню психического здоровья выявлено не было.

Таким образом применение низкотемпературной аргоновой плазмы способствует ускорению заживления раны на всех 3 фазах ее заживления, и к 30-му дню полная эпителизация раны наступала у 76% больных, что было доказано цитологическим, планиметрическим и макроскопическим методами исследования. За счет антимикробного действия НАП удалось уменьшить выраженность воспалительной реакции в ране и снизить титр клинически значимых микроорганизмов. Местное анальгезирующее действие УФ и снижение воспаления в ране позволило снизить уровень болевого синдрома после оперативного вмешательства и уменьшить период трудовой реабилитации пациентов. Действие НАП позволило улучшить качество жизни пациентов после операции. Плазменно-дуговая установка «Плазморан» представляет собой удобный мобильный аппарат, а сама методика применения достаточно проста для специального обучения медицинского персонала. Благодаря доказанной эффективности НАП возможно использовать в комплексном лечении ран после открытой геморроидэктомии. Учитывая сходство течения раневого процесса, мы полагаем, что данную методику также возможно применять и для лечения послеоперационных ран других заболеваний анального канала и перианальной области, однако это требует проведения дальнейших клинических исследований.

ВЫВОДЫ

1. На основании макроскопических данных и планиметрических методов исследования показано, что использование низкотемпературной аргоновой плазмы способствует заживлению раны у больных, перенесших открытую геморроидэктомию, к 30-му дню у 38 (76%) пациентов, тогда как у больных контрольной группы лишь у 19 (37%), $p < 0,001$. С 8-го по 21-й дни после операции скорость заживления раны у пациентов основной группы была выше, по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

2. Применение низкотемпературной аргоновой плазмы снижает уровень послеоперационного болевого синдрома у больных после открытой геморроидэктомии. На 8-й день после операции у пациентов основной и контрольной группы медиана (Q1–Q3) уровня болевого синдрома была равна 3 (3; 4) и 4 (3; 5) баллам, соответственно, $p < 0,0001$. К 30-му дню у 38 (76%) больных основной группы болевой синдром полностью отсутствовал, тогда как у пациентов контрольной группы равнялся 1 (0; 2) баллу.

3. Применение НАП ускоряет заживление раны всех 3 фаз раневого процесса, что доказывается цитологическим исследованием. На 14-й день после операции в мазках – отпечатках у 47 (94%) больных основной и у 28 (55%) пациентов контрольной группы преобладали гистиоциты и фибробласты, что свидетельствует о переходе во 2-ю фазу раневого процесса, $p = 0,001$. На 21-й день у 47 (94%) больных основной и у 28 (55%) контрольной группы определялись клетки незрелого плоского эпителия, что говорит о начале 3 фазы раневого процесса, $p = 0,001$.

4. Низкотемпературная аргоновая плазма обладает выраженным антибактериальным действием, что подтверждается результатами микробиологических исследований. У пациентов наблюдается снижение частоты выявления клинически значимых микроорганизмов и уменьшается обсемененность раневой поверхности после применения НАП. Уже после первого сеанса применения НАП частота встречаемости *Escherichia coli hem+* уменьшилась с 29 (58%) до 18 (36%) случаев, также уменьшился микробный титр с 10^7 КОЕ до 10^6 КОЕ. На 8 день после операции дей-

ствие НАП на *Staphylococcus epidermidis hem+* способствовало снижению обсемененность раны с 10^7 КОЕ до 10^4 КОЕ. Низкотемпературная аргоновая плазма способна оказывать бактерицидный и бактериостатический эффект на микроорганизмы, которые образуют биопленки. Наиболее выражено действие в отношении *Pseudomonas aeruginosa 1000*.

5. Применение низкотемпературной аргоновой плазмы улучшает качество жизни пациентов после геморроидэктомии. На 30-й день медиана (Q1–Q3) показателя уровня физического здоровья у пациентов основной группы равнялась 48 (44; 53) баллам, тогда как у пациентов контрольной группы – 42 (38; 48), $p < 0,001$, соответственно. Период временной нетрудоспособности у пациентов с применением низкотемпературной аргоновой плазмы меньше по сравнению с контрольной группой. Медиана (Q1–Q3) составила 18 (13;22) и 23 (19;32) дня, соответственно, $p = 0,001$.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Больным, перенесшим открытую геморроидэктомию, в качестве физиотерапевтического лечения рекомендуется использовать низкотемпературную аргоновую плазму для ускорения заживления раны.

2. При наличии длительно незаживающих ран возможно применение низкотемпературной аргоновой плазмы для разрушения биопленочных культур, которые являются одной из основных причин замедления заживления ран.

3. Для улучшения качества жизни после операции, снижения уровня болевого синдрома, уменьшения периода временной нетрудоспособности рекомендуется применять низкотемпературную аргоновую плазму у больных после открытой геморроидэктомии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМТ – индекс массы тела

КОЕ – колониеобразующие единицы

НАП – низкотемпературная аргоновая плазма

СД – сахарный диабет

ТРУЗИ – трансректальное ультразвуковое исследование

УФ – ультрафиолет

СХСL-1 – хемокиновый лиганд 1

IL-6 – интерлейкин 6

Нem – гемагглютенин

HIF1 α – фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа

MCP-1 – моноцитарный хемотаксический белок

NF- κ B – универсальный фактор транскрипции

NO – закись азота

PDGF – тромбоцитарный фактор роста

TGF-1 – трансформирующий фактор роста-1

TGF-A – трансформирующий фактор роста A

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адо, А. Д. Патологическая физиология / А. Д. Адо, И. Р. Петров. – М. : Медгиз, 1957. – 539 с.
2. Адо, А. Д. Современные учения о фагоцитозе / А. Д. Адо, А. И. Маянский // Иммунология. – 1983. – № 1. – С. 20–27.
3. Аничков, Н. Н. Морфология заживления ран / Н. Н. Аничков, К. Г. Волкова, В. Г. Гаршин. – М. : Медгиз, 1951. – 124 с.
4. Борисов, И. Ф. Геморроидэктомия плазменным скальпелем : дис. ...канд. мед. наук : 14.01.17 / Борисов Иван Федорович. – М., 2011. – 138 с.
5. Брехов, Е. И. Экспериментальное и клиническое изучение и перспективы применения плазменных потоков / Е. И. Брехов, Н. П. Козлов, В. Ю. Ребизов // Хирургия. – 1989. – № 7. – С. 94–96.
6. Брюсов, П. Г. Плазменная хирургия / П. Г. Брюсов, Б. П. Кудрявцев. – М. : Медицина, 1995. – 118 с.
7. Васильев, Н. Е. Антимикробная фотодинамическая терапия / Н. Е. Васильев, А. П. Огиренко // Лазерная медицина. – 2002. – № 6 (1). – С. 32–38.
8. Вишневский, А. А. Лечение ран и раневая инфекция (Обзор литературы) / А. А. Вишневский, Б. М. Костюченко, А. М. Маршак // Медицинский реферативный журнал. – 1974. – Разд. IV, № 1. – С. 1–12.
9. Войткевич, А. А. Некоторые аспекты современных представлений о посттравматической регенерации / А. А. Войткевич, Г. В. Краснощеков // Архив АГЭ. – 1971. – Т. 6, вып. 3. – С. 92–106.
10. Гейниц, А. В. Фотодинамическая терапия гнойных и длительно не заживающих ран: пособие для врачей / А. В. Гейниц, П. И. Толстых, В. А. Дербенев. – М., 2004. – 15 с.
11. Гирголав, С. С. Огнестрельная рана / С. С. Гирголав. – Л. : Изд. воен.-мед. акад., 1956. – 331 с.
12. Гостищев, В. К. Инфекции в хирургии. Руководство для врачей / В. К. Гостищев. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 761 с.

13. Грушко, В. И. Применение плазменного потока в комплексном лечении гнойных ран : дис. ... канд. мед. наук : 14.00 27 / Грушко Виктор Иванович. – М., 2008. – 142 с.
14. Давыдовский, И. В. Общая патология человека / И. В. Давыдовский. – М. : Медицина, 1969. – 612 с.
15. Даценко, Б. М. Теория и практика местного лечения гнойных ран / Б. М. Даценко. – Киев, 1995. – 383 с.
16. Кузин, М. И. Раны и раневая инфекция. Руководство для врачей / М. И. Кузин. – М. : Медицина, 1990. – 592 с.
17. Кузин, М. И. Рекомендации XXX съезда хирургов по проблеме «Гнойная инфекция в хирургии» / М. И. Кузин // Хирургия. – 1981. – № 12. – С. 38–39.
18. Кузнецов, Н. А. Основы клинической хирургии: практическое руководство / Н. А. Кузнецов. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 672 с.
19. Милешкин, Н. С. Биопленка как форма существования микроорганизмов. Действие факторов иммунной системы / Н. С. Милешкин // Международный студенческий научный вестник. – 2017. – № 2. – С. 32.
20. Османов, Э. Г.-о. Инновационные плазменно-хирургические технологии в комплексном лечении воспалительно-гнойных поражений мягких тканей : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.27 / Османов Эльхан Гаджихан оглы. – Москва, 2009. – 348 с.
21. Петров, С.В. Общая хирургия : учебник / С. В. Петров. – 3-е изд.– М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 768 с.
22. Пшеленская, А. И. Применение высокочастотной электростимуляции в лечении открытых ран промежности и крестцово-копчиковой области : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.17 / Пшеленская Анна Игоревна. – Москва, 2014. – 130 с.
23. Руфанов, И. Г. Заживление раны / И. Г. Руфанов. – М. : Медицина, 1954. – 128 с.
24. Савельев, В. С. Клиническая хирургия. Национальное руководство / В. С. Савельев, А. И. Кириенко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – Т. 1. – С. 536–560.
25. Савельев, В. С. Плазменный скальпель / В. С. Савельев, И. В. Ступин, В. С. Волкоедов [и др.] // Хирургия. – 1987. – № 4. – С. 147–148.

26. Сильвистрович, В. И. Применение композитных гидрогелевых покрытий на основе поливинилового спирта в эксперименте / В. И. Сильвистрович, А. А. Лызинов. – DOI 10.25199/2408-9613-2021-8-3-20-23 // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б. М. Костюченка. – 2021. – № 8 (3). – С. 22–25.
27. Соттаева, В. Х. Применение контролируемой биполярной коагуляции в лечении геморроя : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / Соттаева Валентина Ханатфиевна. – М., 2008. – 107 с.
28. Сысолятта, Е. В. Бактерицидное воздействие низкотемпературной аргонной плазмы на биопленки, сформированные *in vitro* и в зубном канале / Е. В. Сысолятта, К. А. Собянин, А. В. Петряков [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013. – № 6. – С. 8–12.
29. Фукс, Б. Б. Биохимия и гистохимия ран кожи. Очерки по проблеме регенерации / Б. Б. Фукс ; под ред. Н. А. Краевский, Л. Д. Лиознер. – М. : Медицина, 1966. – С. 56–74.
30. Хасанов, А. Г. Комбинированное лечение различных форм рожи с использованием плазменного скальпеля / А. Г. Хасанов, Д. Г. Шайбаков, Р. К. Ибрагимов [и др.] // Пермский медицинский журнал. – 2008. – Т. 25 (1). – С. 40–44.
31. Хмылов, Л. М. Геморроидэктомия ультразвуковым скальпелем : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / Хмылов Леонид Михайлович. – М., 2006. – 124 с.
32. Шельгин, Ю. А. Клинические рекомендации. Колопроктология / Ю. А. Шельгин. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 124 с.
33. Шельгин, Ю. А. Справочник колопроктолога / Ю. А. Шельгин, Л. А. Благодарный. – М. : Литтера, 2012. – С. 64–89.
34. Шулутко, А. М. Стратегия применения плазменно-дугового оборудования в гнойной хирургии / А. М. Шулутко, Э. Г. Османов, Т. Р. Гогохия [и др.] // Московский хирургический журнал. – 2011. – № 5 (21). – С. 34–38.
35. Akasaka, Y. Basic fibroblast growth factor promotes apoptosis and suppresses granulation tissue formation in acute incisional wounds / Y. Akasaka, I. Ono, T. Yamashita [et al] // J. Pathol. – 2004. – № 203. – P. 710–720.

36. Akimoto, Y. Galectin expression in healing wounded skin treated with low-temperature plasma: Comparison with treatment by electrical coagulation / Y. Akimoto, S. Ikehara, T. Yamaguchi [et al] // Arch. Biochem. Biophys. – 2016 Sep 1. – № 605. – P. 86–94.

37. Arndt, S. Cold Atmospheric Plasma (CAP) Changes Gene Expression of Key Molecules of the Wound Healing Machinery and Improves Wound Healing In Vitro and In Vivo / S. Arndt, P. Unger, E. Wacker // PLoS ONE. – 2013. – T. 8, № 11. – C. e79325.

38. Bekara, F. New techniques for wound management: A systematic review of their role in the management of chronic wounds / F. Bekara, J. Vitse, S. Fluieraru [et al.] // Archives of Plastic Surgery. – 2018. – № 45 (2). – P. 102–110.

39. Bielefeld, K. A. Cutaneous wound healing: Recruiting developmental pathways for regeneration / K. A. Bielefeld, S. Amini-Nik, B. A. Alman // Cell. Mol. Life Sci. – 2013. – № 70. – P. 2059–2081.

40. Bora, K. P. High-Voltage Electrical Stimulation Versus Ultrasound in the Treatment of Pressure Ulcers / K. P. Bora, E. Gurcay, O. Z. Karaahmet [et al] // Advances in Skin & Wound Care. – 2017. – № 30 (12). – P. 565–570.

41. Brehmer, F. Alleviation of chronic venous leg ulcers with a hand-held dielectric barrier discharge plasma generator (PlasmaDerm[®] VU-2010): results of a monocentric, two-armed, open, prospective, randomized and controlled trial (NCT01415622) / F. Brehmer, H. A. Haenssle, G. Daeschlein [et al.] // Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2015. – Vol. 29, № 1. – P. 148–155.

42. Brown, S. Clinical antimicrobial photodynamic therapy: phase II studies in chronic wounds / S. Brown // J. Natl. Compr. Canc. Netw. – 2012. – № 10. – P. 80–83.

43. Burusapat, C. Topical Aloe Vera Gel for Accelerated Wound Healing of Split-Thickness Skin Graft Donor Sites: A Double-Blind, Randomized, Controlled Trial and Systematic Review / C. Burusapat, M. Supawan, C. Pruksapong [et al.]. – DOI 10.1097/PRS.0000000000004515 // Plast. Reconstr. Surg. – 2018. – № 142 (1). – P. 217–226.

44. Campitiello, F. Expanded negative pressure wound therapy in healing diabetic foot ulcers: a prospective randomised study / F. Campitiello, M. Manfredi, D. C. Angela

[et al.]. – DOI 10.12968/jowc.2021.30.2.121.// Wound Care. – 2021. – № 30 (2). – P. 121–129.

45. Carapeti, E. A. Double-blind randomised controlled trial of effect of metronidazole on pain after day-case haemorrhoidectomy / E. A. Carapeti, M. A. Kamm, P. J. McDonald [et al.] // Lancet. – 1998. – № 351. – P. 169–172.

46. Carpentier, B. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry / B. Carpentier, O. Cerf // J. Appl. Bacteriol. – 1993. – №75. – P. 499–511.

47. Chen-Yu, C. Adjunctive Hyperbaric Oxygen Therapy for Healing of Chronic Diabetic Foot Ulcers / C. Chen-Yu, W. Re-Wen, H. Mei-Chi [et al.]. – DOI 10.1097/WON.0000000000000374 // Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing. – 2017. – № 1. – P. 1–10.

48. Cheng, K.-Y. Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Using Atmospheric-Pressure Argon Plasma Jet / K.-Y. Cheng, Z.-H. Lin, Y.-P. Cheng // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8 (1). – P. 12214.

49. Cui H. S. Low temperature plasma induces angiogenic growth factor via up-regulating hypoxia-inducible factor 1 α in human dermal fibroblasts / H. S. Cui, S. Y. Joo, D. H. Lee [et al] // Arch Biochem Biophys. – 2017 Sep 15.– № 630. – P. 9–17.

50. Chuangsuwanich, A. The Healing Effect of Low-Temperature Atmospheric-Pressure Plasma in Pressure Ulcer / A. Chuangsuwanich, T. Assadamongkol, D. Boonyawan // The International Journal of Lower Extremity Wounds. – 2016. – № 4. – P. 313–319.

51. Dal Monte, P. P. Transanal haemorrhoidal dearterialisation: nonexcisional surgery for the treatment of haemorrhoidal disease / P. P. Dal Monte, C. Tagariello, M. Sarago // Tech. Coloproctol. – 2007. – № 11. – P. 333–338.

52. Davis, B. R. The American Society of Colon and Rectal Surgeons clinical practice guidelines for the management of hemorrhoids / B. R. Davis, S. A. Lee-Kong, J. Migaly [et al.] // Dis. Colon Rectum. – 2018. – № 61 (3). – P. 284–292.

53. Dereure, O. Efficacy and safety of hyaluronic acid in treatment of leg ulcers: a double-blind RCT / O. Dereure, M. Czubek, P. Combemale. – DOI 10.12968/jowc.2012.21.3.131 // Journal of Wound Care. – 2012. – № 21 (3). – P. 131–139.

54. Desmouliere, A. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar / A. Desmouliere, M. Redard, I. Darby [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 1995. – № 146. – P. 56–66.

55. Duque, A. P. D. N. In vivo wound healing activity of gels containing *Cecropia pachystachya* leaves / A. P. D. N. Duque, N. D. C. C. Pinto, R. D. F. Mendes [et al.] – DOI 10.1111/jphp.12496 // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2016. – № 68. – P. 128–138.

56. Ermolaeva, S. A. New approaches to therapy of persistent infections: elimination of intracellular *Chlamydia trachomatis* by exposure to low temperature argon plasma / S. A. Ermolaeva, E. V. Sysoliatina, N. I. Kolkova [et al.] // *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii.* – 2012. – № 4. – P. 33–37.

57. Ermolaeva, S. A. Nonthermal plasma affects viability and morphology of *Mycoplasma hominis* and *Acholeplasma laidlawii* / S. A. Ermolaeva, I. V. Rakovskaya, G. G. Miller [et al.] // *Journal of Applied Microbiology.* – 2014. – Vol. 116, № 5. – P. 1129–1136.

58. Fantinati, M. S. Low intensity ultrasound therapy induces angiogenesis and persistent inflammation in the chronic phase of the healing process of third degree burn wound permanently induced in diabetic and nondiabetic rats / M. S. Fantinati, D. O. Mendonca, A. M. Fantinati [et al.] // *Acta Cirurgica Brasileria.* – 2016. – № 31. – P. 2016–2043.

59. Folkman, J. Angiogenic factors / J. Folkman, M. Klagsbrun // *Science.* – 1987. – № 235. – P. 442–447.

60. Gerdesmeyer, L. Radial extracorporeal shock wave therapy is safe and effective in the treatment of chronic recalcitrant plantar fasciitis: results of a confirmatory randomized placebocontrolled multicenter study / L. Gerdesmeyer, C. Frey, J. Vester [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2008. – № 36. – P. 2100–2109.

61. Gharaee-Kermani, M. Costimulation of fibroblast collagen and transforming growth factor beta1 gene expression by monocyte chemoattractant protein-1 via specific receptors / M. Gharaee-Kermani, E. M. Denholm, S. H. Phan // *J. Biol. Chem.* – 1996. – Vol. 271. – № 30. – P. 17779–17784.

62. Gillitzer, R. Chemokines in cutaneous wound healing / R. Gillitzer, M. Goebeler // *J. Leukoc. Biol.* – 2001. – № 69. – P. 513–521.

63. Gilmore, T. D. Introduction to NF- κ B: players, pathways, perspectives / T. D. Gilmore // *Oncogene*. – 2006. – № 25. – P. 6680–6684.

64. Glover, J. The plazma scalpel: a new thermal knife / J. Glover, P. Bendick, W. Link // *Laser surgery*. – 1998. – Vol. 3 (1). – P. 101–106.

65. Gurtner, G. C. Wound repair and regeneration / G. C. Gurtner, S. Werner, Y. Barrandon [et al.] // *Nature*. – 2008. – Vol. 453, № 7193. – P. 314–321.

66. Haertel, B. Non-thermal atmospheric-pressure plasma can influence cell adhesion molecules on HaCaT-keratinocytes / B. Haertel, K. Wende, T. von Woedtke [et al.] // *Experimental Dermatology*. – 2011. – Vol. 20, № 3. – P. 282–284.

67. Heinlin, J. Plasma medicine: possible applications in dermatology / J. Heinlin, G. Morfill, M. Landthaler [et al.] // *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. – 2010. – Vol. 8, № 12. – P. 968–976.

68. Jayaraman, S. Stapled hemorrhoidopexy is associated with a higher long-term recurrence rate of internal hemorrhoids compared with conventional excisional hemorrhoid surgery / S. Jayaraman, P. H. Colquhoun, R. A. Malthaner // *Dis. Colon. Rectum*. – 2007. – № 50. – P. 1297–1305.

69. Johannson, H. O. Randomized clinical trial of the effects on anal function of Milligan-Morgan versus Ferguson haemorrhoidectomy / H. O. Johannson, L. Pahlman, W. Graf // *Br. J. Surg*. – 2006. – № 93 (10). – P. 1208–1214.

70. Joshi, S. G. Nonthermal dielectric-barrier discharge plasma-induced inactivation involves oxidative DNA damage and membrane lipid peroxidation in *Escherichia coli* / S. G. Joshi, M. Cooper, A. Yost [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2011. – T. 55. – № 3. – P. 1053–1062.

71. Katayoun, B. M. The effect of a hydrolyzed collagen-based supplement on wound healing in patients with burn: A randomized double-blind pilot clinical trial / B. M. Katayoun, E. Alipoor, R. Vaghardoost [et al.]. – DOI 10.1016/j.burns.2019.02.015 // *Burns*. – 2020. – № 46 (1). – P. 156–163.

72. Kim, J. H. Pain control and early wound healing effect using sitz bath with ozonised water after haemorrhoidectomy / J. H. Kim, D. H. Kim, S. Y. Baik [et al.]. –

DOI 10.12968/jowc.2020.29.5.289 // Journal of Wound Care. – 2020. – № 29 (5). – P. 289–294.

73. Kirketerp-Møller, K. Distribution, organization, and ecology of bacteria in chronic wounds / K. Kirketerp-Møller, P. Jensen, M. Fazli [et al.] // Journal of clinical microbiology. – 2008. – Vol. 46, № 8. – P. 2717–2722.

74. Kolar, M. Upregulation of IL-6, IL-8 and CXCL-1 production in dermal fibroblasts by normal/malignant epithelial cells in vitro: Immunohistochemical and transcriptomic analyses / M. Kolar, P. Szabo, B. Dvorankova [et al.] // Biol. Cell. – 2010. – № 104. – P. 738–751.

75. Leaper, D. J. Surgical site infection – a European perspective of incidence and economic burden / D. J. Leaper, H. van Goor, J. Reilly [et al.] // International wound journal. – 2004. – Vol. 1, № 4. – P. 247–273.

76. Lin, Z.-H. Acute rat cutaneous wound healing for small and large wounds using Ar/O₂ atmospheric-pressure plasma jet treatment / Z.-H. Lin // Plasma Med. – 2017. – № 7. – P. 227–243.

77. Liu, J.-R. Low temperature plasma promoting fibroblast proliferation by activating the NF- κ B pathway and increasing cyclinD1 expression / J.-R. Liu, G.-M. Xu, X.-M. Shi [et al.] // Scientific Reports. – 2017. – № 7 (1). – P. 11698.

78. Mai-Prochnow, A. Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma / A. Mai-Prochnow, M. Clauson, J. Hong [et al.] // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 38610.

79. Maisch, T. Investigation of toxicity and mutagenicity of cold atmospheric argon plasma / T. Maisch, A. K. Bosserhoff, P. Unger [et al.] // Environmental and Molecular Mutagenesis. – 2017. – Vol. 58, № 3. – P. 172–177.

80. Moisan, M. Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms / M. Moisan, J. Barbeau, S. Moreau // International journal of pharmaceutics. – 2001. – Vol. 226, № 1–2. – P. 1–21.

81. Mulholland, E. J. MicroRNA as Therapeutic Targets for Chronic Wound Healing. Molecular Therapy / E. J. Mulholland, N. Dunne, H. O. McCarthy. – DOI 10.1016/j.omtn.2017.06.003 // Nucleic. Acids. – 2017. – № 8 (4). – P. 46–55.

82. Mushaya, C. D. Harmonic scalpel compared with conventional excisional haemorrhoidectomy: a meta-analysis of randomized controlled trials / C. D. Mushaya, P. J. Caleo, L. Bartlett [et al.] // *Techniques in Coloproctology*. – 2014. – № 18 (11). – P. 1009–1016.

83. Natorska, J. Does diabetes accelerate the progression of aortic stenosis through enhanced inflammatory response within aortic valves? / J. Natorska, E. Wypasek, G. Grudzien [et al.] // *Inflammation*. – 2012. – № 35 (3). – P. 834–840.

84. Nesi-Reis, V. Contribution of photodynamic therapy in wound healing: A systematic review / V. Nesi-Reis, D. S. S. L. Lera-Nonose, J. Oyama [et al.] // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2018. – № 21. – P. 294–305.

85. Peacock, E. E. Wound repair / E. E. Peacock, W. van Winkle. – Philadelphia ; London ; Toronto : W.B. Saunders, 1976. – 699 p.

86. Raghavendra, M. Photodynamic therapy: a targeted therapy in periodontics / M. Raghavendra, A. Koregol, S. Bhola // *Aust. Dent. J.* – 2009. – № 54. – P. 102–109.

87. Rastogi, A. Efficacy and Safety of Low-Frequency, Noncontact Airborne Ultrasound Therapy (Glybetac) For Neuropathic Diabetic Foot Ulcers: A Randomized, Double-Blind, Sham-Control Study / A. Rastogi, A. Bhansali, Sh. Ramachandran. – DOI 10.1177/1534734619832738. // *The International Journal of Lower Extremity Wounds*. – 2019. – Vol. 18 (1). – P. 81–88.

88. Reinke, J. M. Wound repair and regeneration / J. M. Reinke, H. Sorg // *European surgical research. Europäische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales europeennes*. – 2012. – Vol. 49, № 1. – P. 35–43.

89. Rivadeneira, D. E. Practice parameters for the management of hemorrhoids (Revised 2010). The standards practice task force of the American Society of Colon and Rectal Surgeons / D. E. Rivadeneira, S. R. Steele, C. Ternent [et al.] // *Dis. Colon. Rectum*. – 2011. – № 54 (9). – P. 1059–1064.

90. Sakr, M. F. LigaSure versus Milligan–Morgan hemorrhoidectomy: a prospective randomized clinical trial / M. F. Sakr // *Techniques in Coloproctology*. – 2009. – № 14 (1). – P. 13–17.

91. Schmidt, A. One Year Follow-Up Risk Assessment in SKH-1 Mice and Wounds Treated with an Argon Plasma Jet / A. Schmidt, T. Woedtke, J. Stenzel [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – № 18 (4). – P. 868.

92. Shah, S. A. Biopolymer-based biomaterials for accelerated diabetic wound healing: A critical review / S. A. Shah, M. Sohail, M. U. Minhas. – DOI 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.007 // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2019. – № 139. – P. 975–993.

93. Singer, A. J. Cutaneous wound healing / A. J. Singer, R. A. Clark // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – № 341. – P. 738–746.

94. Singh, M. Efficacy of Topical Insulin Therapy for Chronic Trophic Ulcers in Patients with Leprosy / M. Singh, M. Pawar. – DOI 10.1097/01.ASW.0000617856.84426.9f // *Advances in Skin & Wound Care*. – 2020. – № 33 (2). – P. 1–6.

95. Sperandio, F. F. Photodynamic therapy mediated by methylene blue dye in wound healing / F. F. Sperandio, A. Simões, A.C. Aranha // *Photomed. Laser Surg.* – 2010. – № 28. – P. 581–587.

96. Sun, P. Tooth whitening with hydrogen peroxide assisted by a direct-current cold atmospheric-pressure air plasma microjet / P. Sun, J. Pan, Y. Tian // *Plasma Sci., IEEE Trans.* – 2010. – № 38. – P. 1892–1896.

97. Sussman, C. Therapeutic and diagnostic ultrasound / C. Sussman, M. Dyson // *Wound Care: A Collaborative Practice Manual for Health Professionals* / C. Sussman, B. M. Bates-Jensen, eds. – 3rd ed. – Philadelphia, PA : Lippincott Williams & Wilkins, 2007. – P. 613–643.

98. Tan, K. Y. Randomized clinical trial comparing LigaSure haemorrhoidectomy with open diathermy haemorrhoidectomy / K. Y. Tan, T. Zin, T. L. Sim [et al.] // *Tech. Coloproctol.* – 2008. – № 12. – P. 93–97.

99. Talha, A. Ligasure, Harmonic Scalpel versus conventional diathermy in excisional haemorrhoidectomy: a randomized controlled trial / A. Talha, S. Bessa, M. Abdel Wahab [et al.] // *ANZ Journal of Surgery*. – 2014. – № 87 (4). – P. 252–256.

100. Traba, C. The inactivation of *Staphylococcus aureus* biofilms using low-power argon plasma in a layer-by-layer approach / C. Traba, J. F. Liang // *Biofouling*. – 2015. – Vol. 31, № 1. – P. 39–48.

101. Vatansever, F. Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species--bactericidal antibiotics, photodynamic therapy, and beyond / F. Vatansever, W. C. de Melo, P. Avci [et al] // *FEMS microbiology reviews*. – 2013. – Vol. 37, № 6. – P. 955–989.

102. Wald, A. ACG clinical guideline: management of benign anorectal disorders / A. Wald, A. E. Bharucha, B. C. Cosman // *Am. J. Gastroenterol.* – 2014. – № 109. – P. 1141–1157.

103. Wałęga, P. wo-center experience in the treatment of hemorrhoidal disease using Dopplerguided hemorrhoidal artery ligation: functional results after 1-year follow-up / P. Wałęga, M. Scheyer, J. Kenig // *Surg Endosc.* – 2008. – № 22 (11). – P. 2379–2383.

104. Watt, F. M. Role of integrins in regulating epidermal adhesion, growth and differentiation / F. M. Watt // *EMBO J.* – 2002. – Vol. 21, № 15. – P. 3919–3926.

105. Wende, K. Risk assessment of a cold argon plasma jet in respect to its mutagenicity / K. Wende, S. Bekeschus, A. Schmidt [et al.] // *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. – 2016. – Vol. 798–799. – P. 48–54.

106. Wexner, S. D. The quest for painless surgical treatment of hemorrhoids continues / S. D. Wexner // *J. Am. Coll. Surg.* – 2001. – № 193. – P. 174–178.

107. White, R. J. Topical antimicrobials in the control of wound bioburden / R. J. White, K. Cutting, A. Kingsley // *Ostomy Wound Manage.* – 2006. – № 52. – P. 26–58.

108. Wiegand, C. Antimicrobial Impact of Cold Atmospheric Pressure Plasma on Medical Critical Yeasts and Bacteria Cultures / C. Wiegand, O. Beier, K. Horn [et al.] // *Skin Pharmacology and Physiology*. – 2014. – Vol. 27, № 1. – P. 25–35.

109. Witte, M. B. Role of nitric oxide in wound repair / M. B. Witte, A. Barbul // *Am. J. Surg.* – 2002. – № 183. – P. 406–412.

110. Yusupov, M. Plasma-Induced Destruction of Bacterial Cell Wall Components: A Reactive Molecular Dynamics Simulation / M. Yusupov, A. Bogaerts,

S. Huygh [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry*. – 2013. – Vol. 117, № 11. – P. 5993–5998.

111. Yu, Y. Non-thermal plasma suppresses bacterial colonization on skin wound and promotes wound healing in mice / Y. Yu, M. Tan, H. Chen [et al.] // *Journal of Huazhong University of Science and Technology*. – 2011. – Vol. 31, № 3. – P. 390–394.

112. Zhu, X. Effect of argon-plasma treatment on proliferation of human-skin-derived fibroblast on chitosan membrane in vitro / X. Zhu, K.S. Chian, M. B. E. Chan-Park // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2005. – № 73A (3). – P. 264–274.