

Д. Г. Терешко¹, А. П. Трухан², Т. А. Летковская¹

ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА ОЦЕНКИ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА ПРИ ОГНЕСТРЕЛЬНЫХ ТРАВМАХ КОНЕЧНОСТИ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
ГУ «432 Главный военный клинический медицинский центр
Вооруженных Сил Республики Беларусь» г. Минск, Беларусь²

Аннотация. В статье приведены результаты исследований, посвященных обоснованию применения цитологического экспресс-метода для оценки раневого процесса у пациентов с огнестрельными травмами конечностей. В ходе исследования осуществлялся забор раневого экссудата из области наиболее измененных тканей в проекции раневого канала с последующим приготовлением препаратов. Первая и вторая группа препаратов окрашивались по Романовскому-Гимзе и способу Алексеева в цитологической лаборатории. Препараты третьей группы окрашивали при помощи красителя Май-Грюнвальда в предоперационной. Сравнительная оценка производилась при помощи разработанного индекса качества окраски цитологического препарата, основывающегося на бальной шкале. Установлено, что качество препаратов, окрашенных при помощи красителя Май-Грюнвальда, было более низким по ряду критериев (полнота окраски клеток и клеточных структур, наличие артефактов, фокусирующее разрешение) в сравнении с препаратами, окрашенными лабораторным способом. Несмотря на данный факт, окраска эозином метиленовым синим по Май-Грюнвальду позволяла установить тип цитогаммы и произвести оценку динамики раневого процесса в течение короткого времени (не более 7-8 минут) непосредственно в предоперационной. Плюсами данного метода являются: возможность получить заключение в кратчайшие сроки, обучаемость, повторяемость, отсутствие в необходимости привлечения специалиста лабораторной диагностики. Данная методика является рабочим инструментом хирурга для практического прицельного воздействия на рану с учетом объективной оценки раневого процесса.

Ключевые слова: огнестрельная рана мышцы, раневой процесс, цитологическая экспресс-оценка.

D. G. Tereshko, A. P. Trukhan, T. A. Letkovskaya

APPLICATION OF THE CYTOLOGICAL METHOD OF ASSESSMENT OF THE WOUND PROCESS IN GUNSHOT INJURIES OF THE LIMB

Annotation. The article presents the results of studies devoted to the substantiation of the use of the cytological express method for assessing the wound process in patients with gunshot injuries of the extremities. In the course of the study, wound exudate was taken from the area of the most altered tissues in the projection of the wound channel, followed by preparation of preparations. The first and second group of preparations were stained according to Romanovsky-Giemsa and Alekseev's method in the cytological laboratory. The preparations of the third group were stained with the May-Grunwald dye in the preoperative room. Comparative assessment was carried out using the developed color quality index of the cytological preparation, based on a point scale. It was found that the quality of preparations stained with the May-Grunwald dye was lower according to a number of criteria (completeness of staining of cells and cell structures, the presence of artifacts, focusing resolution) in comparison with preparations stained by the laboratory method. Despite this fact, staining with eosin methylene blue according to May-Grunwald made it possible to establish the type of cytogram and assess the dynamics of the wound process within a short time (no more than 7-8 minutes) directly in the preoperative room. The advantages of this method are: the ability to get a conclusion in the shortest possible time, learnability, repeatability, the absence of the need to involve a specialist in laboratory diagnostics. This technique is a surgeon's working tool for practical targeting of the wound, taking into account an objective assessment of the wound process.

Key words: muscle gunshot wound, wound process, rapid cytological assessment.

Введение. Патогенетически обоснованные методы лечения занимают все большую роль в развитии современной медицины [4, 6]. Изучение патогенеза заболевания на различных уровнях позволяет более эффективно выявить причины развития болезни и применить наиболее правильную тактику для их устранения [2]. Данный факт является правомочным и в отношении ран и раневой инфекции [8]. Глубокое понимание всех звеньев патогенеза раневого процесса позволяет разрабатывать и внедрять новые эффективные методы лечения [1]. Однако в ходе объективной диагностики фаз раневого процесса и последующем прогнозировании его течения существует ряд определенных трудностей [3]. Зачастую динамическая оценка течения раневого процесса основывается исключительно на клинической характеристике самой раны и носит субъективный характер [6]. Цитологический метод исследования, позволяющий установить особенности клеточного состава раневого экссудата, применяется в большинстве случаев исключительно для научных исследований. Более широкое использование данного метода в клинической практике позволило бы более рационально оценивать течение раневого процесса и прицельно воздействовать на него. В свою очередь, существующие варианты окраски цитологических препаратов нередко требуют наличия специального оборудования и должны выполняться в цитологических лабораториях. В то же время возникает необходимость в применении упрощенного метода окраски, который позволил бы максимально быстро установить фазу раневого процесса непосредственно в хирургическом отделении (в предоперационной, перевязочной и т.д.). На подготовительном этапе нами были рассмотрены три варианта окраски цитологических препаратов: классический метод окраски по Романовскому-Гимзе, метод окраски по Алексеву и окраска при помощи фиксатора-красителя Май-Грюнвальда. Метод Романовского-Гимзы является наиболее распространенным и чаще всего применяется для окраски цитологических препаратов. Метод Алексева предусматривает ускоренную обработку цитологических препаратов азурэозиновыми смесями, что дает возможность относить его к экспресс-методам. Фиксатор-краситель эозин метиленовый синий по Май-Грюнвальду также позволяет добиться быстрой окраски клеточных структур без предва-

рительной фиксации цитологического материала [5]. В ходе экспериментальных исследований, проведенных ранее на лабораторных животных, была показана возможность применения цитологического экспресс-метода диагностики для оценки заживления огнестрельной раны конечности. Окраска препаратов осуществлялась при помощи красителя Май-Грюнвальда [7]. В данной статье авторы приводят результаты применения данного метода для установления фазы раневого процесса в клинике у пациентов с огнестрельными травмами конечностей.

Цель работы – обосновать возможность применения цитологического экспресс-метода диагностики для оценки течения раневого процесса у пациентов с огнестрельными травмами конечностей.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе государственного учреждения «432 ордена Красной Звезды главный военный клинический медицинский центр Вооруженных Сил Республики Беларусь». В ходе исследования был осуществлен цитологический анализ 30 ран у пациентов с огнестрельными и взрывными ранениями конечностей, которые проходили лечение во 2-ом хирургическом и 2-ом травматологическом отделениях в 2020 г. Динамику раневого процесса оценивали в ходе проведения этапных хирургических обработок (первичных и повторных первичных) ран путём цитологической диагностики. Для этого осуществляли забор раневого экссудата из области наиболее измененных тканей в проекции раневого канала методом поверхностной биопсии по Камаеву. Путем легкого поскабливания при помощи ложки Фолькмана выполняли соскоб с раневой поверхности с переносом полученного материала на три стерильных предметных стекла и последующим приготовлением мазков. После подсушивания мазки подвергались окраске. Первый мазок окрашивали непосредственно в предоперационной путём нанесения 2–3 капель фиксатора-красителя Май-Грюнвальда с последующей пятиминутной экспозицией. Затем в течение 10–15 секунд препарат промывали под проточной водой, высушивали и подвергали микроскопии с определением типа цитограммы. Второе и третье предметное стекло с раневым экссудатом доставляли в цитоло-

гическую лабораторию. Для окраски второго препарата использовали методику Романовско-го-Гимзы, третий препарат окрашивали по способу Алексева. Таким образом, в зависимости от вида окраски, все препараты были разделены на три группы (таблица 1).

лабораторным способом. Индекс качества окраски первой группы препаратов составил 10,1 (10;11), во второй группе – 12,0 (12,0;12,0), в третьей – 12,0 (11,0;12,0) ($p < 0,0001$). При сравнении первой и второй групп препаратов были выявлены статистически значимые различия

Таблица 1. Распределение цитологических препаратов на группы в зависимости от типа окраски

	Первая группа	Вторая группа	Третья группа
Окраска	По Мая-Грюнвальду	По Романовскому-Гимзе	По Алексеву
Количество препаратов	30	30	30

Препараты оценивались при помощи световой микроскопии. На основании выявленного типа цитограммы определялась фаза раневого процесса. Для объективного сравнения качества препаратов был разработан индекс качества окраски, основанный на учёте наиболее значимых критериев.

В ходе микроскопии определялась равномерность окрашивания препарата в целом, полноценность окраски клеток и клеточных структур, наличие артефактов и максимальное фокусирование. В зависимости от качества препарата по каждому критерию выставлялось определенное количество баллов. Итоговое значение индекса качества окраски рассчитывали путём суммирования полученных баллов. Более высокое итоговое значение соответствовало более качественному препарату. Минимальное количество баллов равнялось нулю, максимальное – 12.

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием непараметрических методов. Данные представлены в виде Me (25%-75%), где Me – медиана, 25% и 75% – 25 и 75 процентиля. Результаты одновременной окраски тремя способами одной и той же раны являются зависимыми данными, в связи с чем, для сравнения показателей между тремя группами использовали дисперсионный анализ (ANOVA), для сравнения показателей между двумя группами использовали критерий Wilcoxon (Wilc.). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При оценке качества препаратов, окрашенных красителем Мая-Грюнвальда, был выявлен ряд статистически значимых различий по сравнению с качеством препаратов, окрашенных

в пользу окраски Романовского-Гимзы ($W = 0,00$; $p < 0,0001$). При сравнении первой и третьей групп также отмечались статистически значимые различия ($W=6,00$; $p < 0,0001$). Сравнение второй и третьей групп не показало статистически значимых различий ($W = 11,5$; $p = 0,192$). Выявленные различия при оценке трех групп препаратов в целом и их отсутствие при сравнении второй и третьей групп позволяют судить о более высоком качестве лабораторных препаратов по сравнению с качеством препаратов, окрашенных при помощи красителя Мая-Грюнвальда.

В ходе исследования также была произведена оценка составляющих показателей индекса качества окраски.

Показатель равномерности окрашивания первой группы составил 3,0 (3,0;3,0), во второй группе он был равен 3,0 (3,0;3,0), в третьей – 3,0 (3,0;3,0). Статистически значимых различий между тремя группами не выявлялось ($p = 0,548$). Различия были статистически незначимыми как при сравнении первой и второй группы ($W = 0,00$; $p = 0,179$), так и первой и третьей групп ($W = 5,00$; $p = 0,5001$). Полученные данные дают возможность утверждать, что качество препарата, окрашенного предлагаемым способом, сопоставимо с лабораторными методами окраски по данному показателю.

При оценке полноценности окраски клеток и клеточных структур данный показатель значительно отличался между тремя группами ($p < 0,0001$) и составил в первой группе 2,0 (1,0;3,0), во второй группе – 3,0 (3,0;3,0), в третьей он был равен 3,0 (3,0;3,0). При сравнении результатов первой и второй групп препаратов были выявлены статистически значимые различия ($W = 0,00$; $p < 0,0001$). Также статистически значимые раз-

личия по данному показателю выявлялись при сравнении первой и третьей групп ($W = 0,00$; $p = 0,0001$). Полноценность окраски клеток и клеточных структур была более высокой при окраске препаратов в лаборатории. Данный факт мы связываем с применением дополнительных красителей, которые позволяли более полноценно окрашивать клеточные структуры. Несмотря на различия по данному показателю, проведение цитологической диагностики в первой группе препаратов было осуществимо, что соответствовало цели нашего исследования.

Показатель, характеризующий наличие артефактов, в первой группе составил 3,0 (2,0;3,0), во второй группе – 3,0 (3,0;3,0), в третьей – 3,0 (3,0;3,0). Статистический анализ позволил выявить различия в трех группах ($p = 0,0053$). При сравнении первой и второй групп по данному показателю были выявлены статистически значимые различия ($W = 6,00$; $p = 0,0096$), однако при сравнении первой и третьей групп статистически значимых различий получено не было ($W = 32$; $p = 0,0626$). Выявленные результаты мы связываем с особенностями красителя Май-Грюнвальда. Также данный факт позволяет судить, что окраска по Романовскому-Гимзе является более качественной по сравнению с экспресс-методами.

При определении максимального фокусирующего разрешения на препарате ($\times 100$, $\times 200$, $\times 400$) показатель в первой группе составил 3,0 (3,0;3,0), во второй группе – 3,0 (3,0;3,0), в третьей – 3,0 (3,0;3,0) ($p = 0,0025$). Значимые различия по данному показателю определялись как при сравнении первой и второй групп ($W = 0,00$; $p = 0,0277$), так и при сравнении первой и третьей групп ($W = 0,00$; $p = 0,0277$). Выявленные различия свидетельствовали о том, что лабораторные методы окраски позволяют проводить более качественную диагностику цитологического препарата на максимальном увеличении. Максимальное фокусирование препаратов первой группы определялось в 80% случаев. В остальных случаях проведение цитологической диагностики на более низком увеличении также позволяло установить тип цитограммы.

В первой группе препаратов возможность установления типа цитограммы отмечалась

в 93% случаев, во второй и третьей группах тип цитограммы был установлен в 100% случаев.

Заключение. Проведенное исследование показало, что метод окраски по Романовскому-Гимзе позволяет подготовить более качественный цитологический препарат для последующей диагностики. Несмотря на это выполнение данного метода должно осуществляться специалистами непосредственно в цитологической лаборатории и требует точного соблюдения ряда условий и временных промежутков в течение процесса окрашивания. Также данный способ требует больших временных затрат, что не позволяет отнести его к экспресс-методам. Способ окраски по Алексееву относится к экспресс-методам и его выполнение осуществимо вне пределов лаборатории. Заключение по цитологическому препарату может быть получено в течение короткого временного промежутка, однако при проведении данного способа окраски существует необходимость в использовании дополнительного красителя (азур-эозина) и дополнительного оборудования (устройства для подогревания раствора красителя). Предлагаемая методика окраски при помощи фиксатора-красителя Май-Грюнвальда, несмотря на более низкое качество цитологических препаратов по ряду показателей (полноценность окраски клеток и клеточных структур, наличие артефактов, фокусирующее разрешение), позволяет произвести оценку динамики раневого процесса с установлением типа цитограммы в течение короткого времени непосредственно в предоперационной. В ходе окраски отсутствует необходимость в предварительной фиксации материала, а также применении дополнительного красителя и оборудования, что ускоряет сам процесс окраски данным способом. При получении препарата неудовлетворительного качества существует возможность приготовления нового препарата в кратчайшие сроки.

Вывод. Предложенный способ окраски эозином метиленовым синим по Май-Грюнвальду может быть использован для экспресс-оценки течения раневого процесса у пациентов с огнестрельными травмами конечностей.

Литература

1. Абаев Ю. К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция. – Ростов н/Д: Феникс. – 2006. – 427 с.
2. Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П. Механизмы развития болезней и синдромов // Патологическая физиология. – Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб, 2002. – Т. I. – С. 63–79. – 240 с.
3. Кузин М. И., Костюченко Б. М. Объективные критерии оценки течения раневого процесса. В кн. «Раны и раневая инфекция». – М. 1990. 190 с.
4. Ниязов Б. С., Мамакеев Ж. Б., Сабитов А. А., Маманов Н. К. Современный взгляд на этиологию и патогенез раневого процесса (обзор литературы) / Б. С. Ниязов [и др.] // Бюллетень науки и практики. 2020. Т. 6. № 12. С. 176–190. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/61/17>.
5. Перова М. Д., Гайворонская Т. В., Карпюк В. Б., Севостьянов И. А., Шипиева У. А. Использование прогностических цитологических характеристик для выбора методики ре-

References

1. Abaev Ju. K. Spravochnik hirurga. Rany i ranevaja infekcija. – Rostov n/D: Feniks. – 2006. – 427 s.
2. Zajchik A. Sh., Churilov L. P. Mehanizmy razvitija boleznej i sindromov // Patofiziologija. – Sankt-Peterburg: JeLBI-SPb, 2002. – T. I. – S. 63–79. – 240 s.
3. Kuzin M. I., Kostjuchenok B. M. Ob#ektivnye kriterii ocenki techenija ranevogo processa. V kn. «Rany i ranevaja infekcija». – M. 1990. 190 s.
4. Nijazov B. S., Mamanov N. K., Sabitov A. A., Mamanov N. K. Sovremennij vzgljad na jetiologiju i patogenez ranevogo processa (obzor literatury) / B. S. Nijazov [i dr.] // Bjulleten' nauki i praktiki. 2020. T. 6. No 12. S. 176–190. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/61/17>.
5. Perova M. D., Gajvoronskaja T. V., Karpjuk V. B., Sevost'janov I. A. Shipieva U. A. Ispol'zovanie prognoznyh cito-

неративного лечения больных пародонтитом / М. Д. Перова [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. 2018; 25(5): 65-70. doi: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-5-65-70.

6. Супильников А. А., Девяткин А. А., Павлова О. Н., Гуленко О. Н. Морфологические и физиологические аспекты течения раневого процесса (литературный обзор) / А. А. Супильников [и др.] // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье. 2016. № 3 (23). С. 144–151.

7. Трухан А. П., Жидков С. А., Летковская Т. А. Комплексная оценка эффективности паравульнарного введения антигипоксантов при огнестрельных ранениях мышц / А. П. Трухан [и др.] // Военно-медицинский журнал. 2017; 338(1). С. 34–38.

8. Heerschap C, Nicholas A, Whitehead M. Wound management: Investigating the interprofessional decision-making process. Int Wound J. 2019 Feb;16(1):233-242. doi: 10.1111/iwj.13017.

logicheskikh harakteristik dlja vybora metodiki regenerativnogo lechenija bol'nyh parodontitom /M. D. Perova [i dr.] // Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik. 2018; 25(5): 65-70. doi: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-5-65-70.

6. Supil'nikov A. A., Devjatkin A. A., Pavlova O. N., Gulenko O. N. Morfologicheskie i fiziologicheskie aspekty techenija ranevogo processa (literaturnyj obzor) / A. A. Supel'nikov [i dr.] // Vestnik medicinskogo instituta «REAVIZ»: reabilitacija, vrach i zdorov'e. 2016. № 3 (23). S. 144–151.

7. Truhan A. P., Zhidkov S. A., Letkovskaja T. A. Kompleksnaja ocenka jeffektivnosti paravul'narnogo vvedenija anti-gipoksantov pri ognestrel'nyh reanenijah myshc. / A. P. Truhan [i dr.] // Voenno-medicinskij zhurnal. 2017; 338(1). S. 34–38.

8. Heerschap C, Nicholas A, Whitehead M. Wound management: Investigating the interprofessional decision-making process. Int Wound J. 2019 Feb;16(1):233-242. doi: 10.1111/iwj.13017.

Поступила 18.03.2021 г.