

# ОГЛАВЛЕНИЕ

---

<b>Предисловие</b> .....	5
<b>Глава 1. Общие вопросы</b> .....	7
1.1. Биологические основы действия монооксида азота .....	7
1.2. Роль лимфатической системы в патогенезе гнойно-воспалительных процессов. Методы лимфатической терапии .....	13
1.3. Лимфатическая система как среда лечебного воздействия .....	18
1.4. Строение лимфатической системы. ....	18
1.5. Клиническая анатомия поверхностных лимфатических сосудов нижней конечности .....	21
1.6. Региональные лимфатические узлы нижней конечности .....	22
1.7. Отток лимфы от тазовых и забрюшинных органов .....	24
1.8. Физиология лимфатической системы .....	25
1.9. Методы лимфогенной терапии .....	27
1.10. Методика катетеризации лимфатических сосудов. ....	29
1.11. Методика лимфотропного введения препаратов .....	30
<b>Глава 2. Воздушно-плазменная хирургическая установка «Плазон-ВП»</b> ..	31
<b>Глава 3. Экспериментальные исследования действия NO</b> .....	37
3.1. Воздействие монооксида азота на процессы неоангиогенеза и эндотелий кровеносных микрососудов. ....	38
3.2. Криофрактографическое исследование эндотелия кровеносных микрососудов в условиях воздействия монооксида азота на фоне модели воспаления. ....	39
3.3. Влияние монооксида азота на активность регионарных лимфатических узлов в условиях эксперимента. ....	45
3.4. Содержание цефотаксима в органах и тканях экспериментальных животных при различных методах введения антибиотика, в условиях экспериментального воспаления и при воздействии монооксида азота .....	47
3.5. Комбинированная терапия в профилактике послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений в урологии .....	50
<b>Глава 4. NO- и лимфатическая терапия в урологии</b> .....	62
4.1. Профилактика и лечение гнойно-воспалительных осложнений после трансуретральных резекций простаты. ....	62
4.2. Комплексная лимфотропная и NO-терапия у больных хроническим циститом .....	72
4.3. NO- и лимфатическая терапия болезни Пейрони .....	80
4.4. Лимфатическая и NO-терапия при лечении болезни Фурнье .....	87

4.5. Лимфотропная и NO-терапия в комплексном лечении урологических осложнений при позвоночно-спинальной травме . . . . .	89
4.6. Комбинированная NO- и лимфатическая терапия орхоэпидидимита . . . . .	93
<b>Глава 5. Лечение перитонитов, вызванных заболеваниями и травмами мочеточников и мочевого пузыря . . . . .</b>	<b>103</b>
5.1. Исследование фармакокинетики перитонеальной жидкости . . . . .	106
5.2. Морфологические исследования клеток перитонеальной жидкости. . . . .	107
5.3. Бактериологические исследования мочи при перитоните . . . . .	112
5.4. Иммунологические исследования крови при перитоните . . . . .	114
5.5. Определение уровня гистамина в перитонеальной жидкости . . . . .	116
5.6. Концентрация оксида азота в периферической крови и перитонеальной жидкости. . . . .	117
5.7. Расчет стоимости использования аппаратов «Плазон» и «Лимфа-Э» для коммерческого применения . . . . .	119
5.8. Анализ «минимизации затрат». . . . .	121
5.9. Анализ «затраты – эффективность» . . . . .	121
5.10. Оценка качества жизни у больных перитонитом . . . . .	123
5.11. Оценка болевого синдрома по шкале ВАШ . . . . .	125
<b>Глава 6. Основы взаимодействия NO-терапии и лимфотропной антибиотикопрофилактики . . . . .</b>	<b>128</b>
6.1. Методическое обеспечение . . . . .	128
6.2. Особенности раневого процесса . . . . .	129
6.3. Фармакокинетические аспекты. . . . .	131
6.4. Клиническая результативность . . . . .	135
<b>Глава 7. Профилактика гнойных послеоперационных осложнений . . . . .</b>	<b>137</b>
7.1. Определение скорости кровотока . . . . .	138
7.2. Гистохимические критерии целесообразности проведения профилактической лимфотропной и NO-терапии . . . . .	139
7.3. Сравнительный анализ клинико-лабораторных критериев эффективности использования NO-содержащих воздушно-плазменных потоков у больных основной и контрольной групп . . . . .	141
7.4. Анализ клинических результатов лечения больных. . . . .	144
7.5. Показатели качества жизни у больных в абдоминальной хирургии . . . . .	145
<b>Глава 8. Лимфатическая терапия в анестезиологии . . . . .</b>	<b>146</b>
8.1. Лимфотропная иммунокорректирующая терапия у хирургических больных в до- и послеоперационном периодах . . . . .	146
8.2. Экспериментальные исследования. . . . .	147
8.3. Клинические исследования . . . . .	151
8.4. Практические рекомендации. . . . .	153
<b>Заключение . . . . .</b>	<b>154</b>
<b>Список литературы . . . . .</b>	<b>156</b>

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ NO<sup>1</sup>

---

Углубленное изучение проблемы гнойно-воспалительных процессов в организме привело ученых к мысли о возможности использования лимфатической системы как пути введения лекарственных препаратов [Панченков Р.Т., Выренков Ю.Е., Ярема И.В., 1984].

Известно, что лимфатические узлы при воспалении обладают способностью задерживать микроорганизмы. При длительно протекающем воспалительном процессе микробы, скопившиеся в лимфатических узлах, способствуют дальнейшему распространению инфекции, причем антибактериальные препараты, введенные традиционным путем, не оказывают на них влияния [Ярема И.В., Уртаев Б.М., 1995].

В нашей работе исследовали концентрацию цефотаксима в сравнительном аспекте при внутривенном, эндолимфатическом и лимфотропном введении, а также на фоне экспериментального воспаления и действия монооксида азота.

Для изучения влияния монооксида азота на ткани были поставлены эксперименты на белых крысах линии «Вистар» и проведен анализ растущих микрососудов в дерме кожи крысы в различных экспериментальных моделях. Через 2–3-е суток от начала эксперимента рана имела все признаки нагноения. У животных рану подвергали воздействию физиологическим раствором, стимуляцию заживления ран проводили с помощью 0,2% трипсина на физиологическом растворе, а также в качестве стимулирующего вещества использовали монооксид азота.

Для изучения возможности использования монооксида азота в комплексном лечении инфекционных осложнений ран была выбрана экспериментальная модель септического воспаления, позволяющая стандартизировать микробную нагрузку и процесс развития воспаления.

Основные гнойно-септические заболевания человека обусловлены золотистым и эпидермальным видами стафилококка (*St. Aureus* и *St. Epidermatis*, соответственно). В настоящей работе использован золотистый стафилококк (штамм 13407), выделенный от больного сепсисом.

Используемый штамм золотистого стафилококка мы высевали на кровяной агар и инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч. В дальнейшем производили смыв культуры и измеряли количество микробных тел на фотоэлектрокалориметре при длине световой волны 750 нм, сопоставляя полученные величины со стандартом мутности. Разведением куль-

туры физиологическим раствором добивались содержания микробных тел в 1 мл взвеси  $60 \times 10^9$ .

Для моделирования гнойной раны у лабораторных животных предварительно вводили стафилококковый альфа-токсин в дозах, подбираемых в каждом исследовании в зависимости от свойств препарата. При этом сенсibiliзирующие свойства альфа-токсина проявлялись, если его применяли за 24–48 ч до введения микробных тел.

В нашем исследовании был использован альфа-токсин, серии 128/9 института микробиологии и эпидемиологии им. Н.Ф. Гамалеи.

Таким образом, модель септического воспаления в данной работе достигалась следующим образом: животным внутримышечно вводили 0,05 мкл альфа-токсина, а через 48 ч на поверхность кожи наносили  $60 \times 10^9$  тел золотистого стафилококка. Животным с инфицированным ранением проводили традиционные методы лечения, ежедневно обрабатывали рану с помощью NO-содержащих газовых потоков и проводили антибактериальную терапию лимфотропным введением антибиотика.

Полученные от экспериментальных животных препараты изучали методами электронной микроскопии, криофрактографии и иммуногистохимии.

### **3.1. Воздействие монооксида азота на процессы неангиогенеза и эндотелий кровеносных микрососудов**

Исследования по изучению воздействия монооксида азота на раневой процесс, проведенные в клинике и эксперименте, обнаружили выраженные эффекты биостимуляции, нормализации системы микроциркуляции, активации клеток соединительной ткани и иммунокомпетентных клеток.

По данным А.Б. Шехтера и соавт. (2001), монооксид азота способствует новообразованию капилляров, т. е. ускоряет процессы неангиогенеза. Ведущую роль в этом процессе играют эндотелиоциты, которые в норме (у интактных животных) имеют крайне низкие показатели пролиферативной активности, что является результатом контактного торможения популяции клеток. В условиях репаративной регенерации митотическая активность резко возрастает, что и является фактором новообразования капиллярных сетей [Чернеховская Н.Е., Шишло В.К. и др., 2010].

Пролиферативную активность эндотелия кровеносных микрососудов собственно кожи определяли методом иммуногистохимии. С помощью моноклональных антител (МКА) выявляли ядерный антиген потенцированных к митозу клеток (PCNA). Указанные МКА (PCNA) соединяются с белком циклином, который присутствует только в делящихся или готовых к делению клетках. Кроме того, проводили визуализацию эндотелия с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), применяли метод СЭМ нативных препаратов [Караганов Я.Л., Миронов А.А., Миронов В.А., 1986].

Препараты изучали на светооптическом уровне и проводили количественную статистическую обработку полученных результатов. За единицу измерения брали одну окрашенную МКА клетку (ОК). Анализ полученных данных показал, что у интактных животных пролиферативная активность эндотелиоцитов практически отсутствует и составляет  $0,7-1,1 \pm 0,03$  ОК.

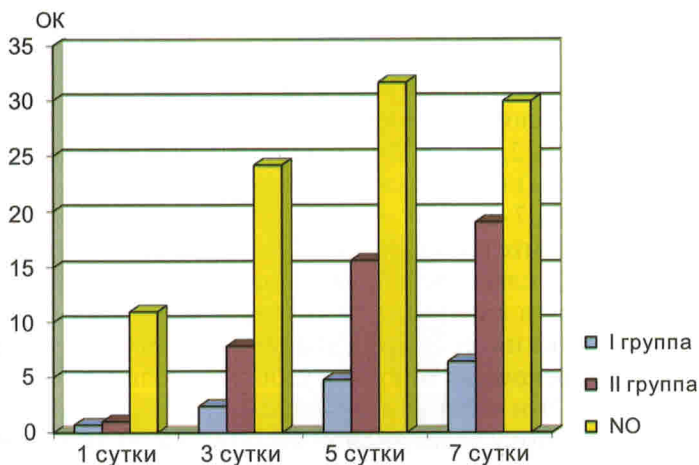


Рис. 17. Пролиферативная активность эндотелия кровеносных микрососудов:

I группа – интактные животные; II группа – животные с инфицированным огнестрельным ранением; NO – животные с инфицированным огнестрельным ранением, которым проводили обработку раны монооксидом азота.

У экспериментальных животных количество клеток увеличивается к 3–5-м суткам от начала опыта ( $7,81 \pm 1,43$  ОК), к 7-м суткам достигает довольно высоких цифр ( $19,71 \pm 2,17$  ОК), что позволяет считать возможным образование эндотелиальных клеток, переформирующихся в будущем кровеносные капилляры, т. е. процесс ангиогенеза становится заметным явлением.

Обработка раны монооксидом азота у животных стимулирует пролиферацию эндотелиоцитов уже на 1-е сутки ( $10,97 \pm 1,53$  ОК). К 3–5 суткам количество митотически способных клеток увеличивается более чем в 3 раза и составляет  $31,63 \pm 2,78$  ОК, к 7-м суткам процесс накопления клеточной массы стабилизируется и остается на цифрах  $29,91 \pm 2,14$  ОК (рис. 17).

Таким образом, монооксид азота способствует значительному увеличению монослоя эндотелия за счет пролиферации клеток и по сравнению с традиционными способами лечения гнойных осложнений после огнестрельных ранений, обладает выраженной конкурентной направленностью. С биологической точки зрения, увеличение количества эндотелиоцитов также имеет важное значение, поскольку на сегодняшний день установлен факт передачи сигналов в биосистемах. Монооксид азота, вырабатываемый в эндотелиальных клетках, проникает через мембраны и регулирует функции других клеток.

### 3.2. Криофрактографическое исследование эндотелия кровеносных микрососудов в условиях воздействия монооксида азота на фоне модели воспаления

С помощью метода криофрактографии исследовали плотность плазмалеммальных пузырьков (кавеол) на сколах эндотелиальных клеток, поскольку разработка критериев криофрактографической идентификации кавеол по-

зволила перейти к количественной оценке частоты и вида их распределения в клетках эндотелия. По данным Simionescu, удельная плотность кавеол эндотелия капилляров различных органов неодинакова.

По нашим данным, плотность кавеол на сколах эндотелиоцитов у интактных животных составила 2,8%, во 2-й группе (животные с инфицированным огнестрельным ранением) на 1 сутки от начала опыта – 3,1%, к 3-м суткам – 1,7%, на 5-е – 1,3%, и на 7-е сутки – 1,5%.

В результате воспалительной реакции возникают нарушения в системе микроциркуляции, классически описанные А.М. Чернухом и соавт. (1984) и выражающиеся в дилатации капилляров и посткапиллярных венул, «сладж»-феномене, отеке интерстиции, диапедезе эритроцитов, плазморагии, набухании стенок кровеносных микрососудов, как правило, с повреждением мембранных структур. Эти явления в конечном итоге препятствуют нормальному транспортному потоку через эндотелиоциты, уменьшая перенос биологически активных веществ, что замедляет процессы репаративной регенерации. В 3-й группе животных, которым проводили ежедневно обработку раны монооксидом азота, картина была иной.

Уже на 1-е сутки плотность кавеол эндотелия кровеносных микрососудов собственно кожи и мышечной ткани составила 4,1%. К 3-им суткам составила – 5,3%, а к 5-м суткам достигла 6,7%. На 7-е сутки удельная плотность плазмалеммальных пузырьков на сколах клеток стабилизировалась и равнялась 6,1% (рис. 18). Даже на фоне воспаления, трансэндотелиальный перенос увеличился в 2–2,5 раза. Это свидетельствует, что монооксид азота является мощным стимулятором образования новых трансэндотелиальных каналов (см. рис. 23).

Этот факт вкпе с активной пролиферацией эндотелиоцитов влияет на скорость репаративной регенерации и исход раневого процесса. В отличие от группы животных, которым проводили традиционное лечение, при действии монооксида азота уже на 3–5-е сутки, была заметна хорошо развитая грануляционная ткань. В те же сроки во второй группе животных отмечались выраженные очаги воспалительной реакции в поврежденных тканях (рис. 19–28), что не противоречит данным, полученным А.Б. Шехтером и соавт. (2001).

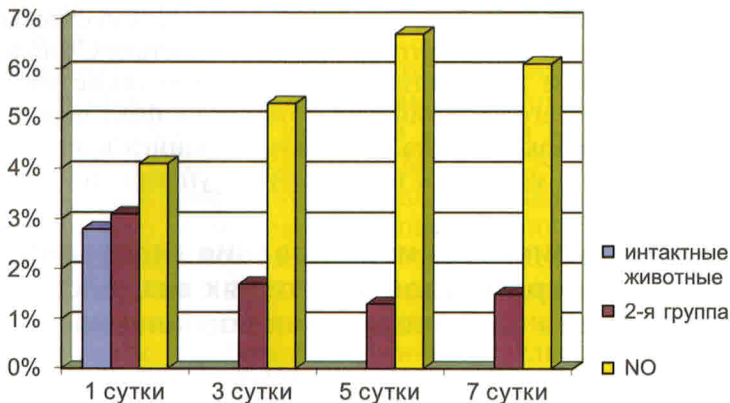
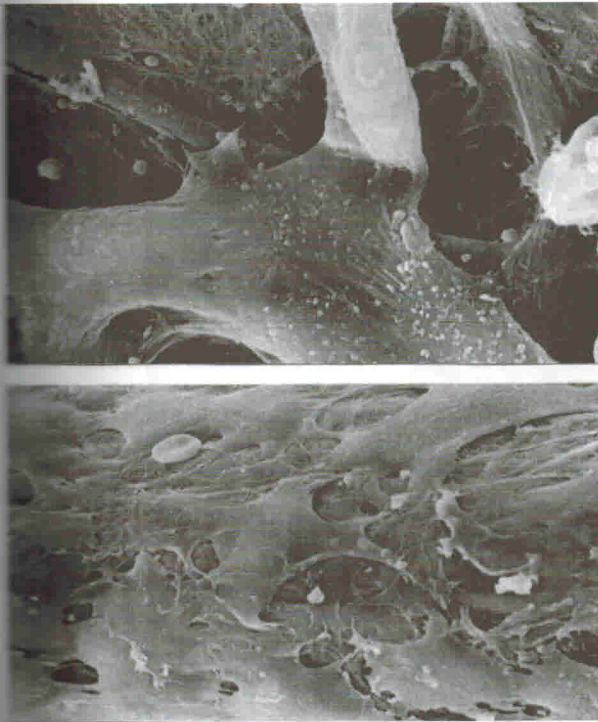


Рис. 18. Динамика роста эндотелия кровеносных микрососудов



А

Б

Рис. 19:

А – поврежденные ткани бедра экспериментального животного через 1 сутки после экспериментального ранения.

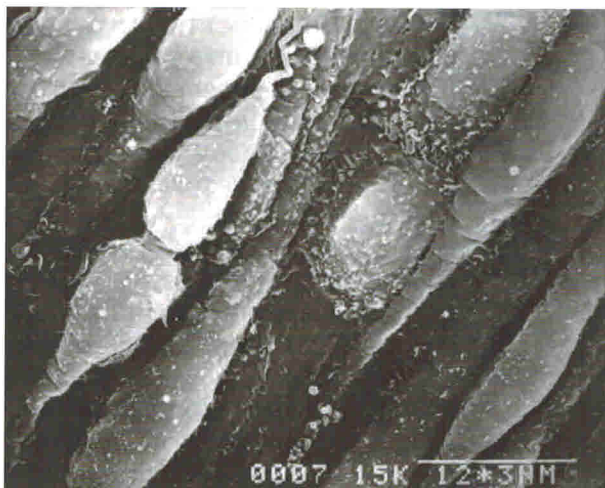
Б – грануляционная ткань дна огнестрельной раны на 3 сутки от начала эксперимента при ежедневной обработке монооксидом азота. СЭМНП,  $\times 420$  (А),  $\times 380$  (Б)



Рис. 20. Нарушение целостности эндотелия кровеносного микро-сосуда в пограничной зоне раны через 1 сутки от начала опыта. СЭМНП,  $\times 270$

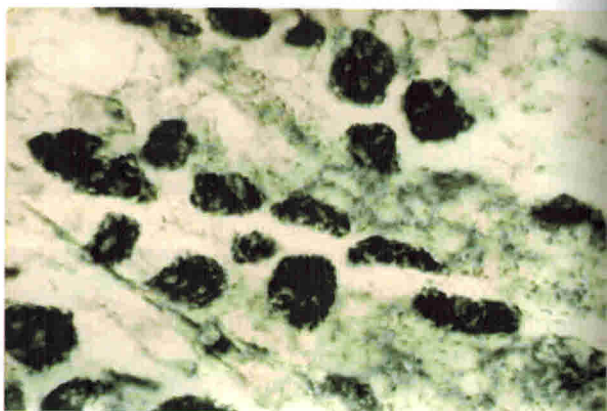
Таким образом, можно констатировать, что увеличение плотности кавеол эндотелия кровеносных микрососудов стабилизирует процесс трансэндотелиального массопереноса, и, в свою очередь, обеспечивает ускорение процессов регенерации раны.

Как известно, заживление ран связано с формированием грануляционной ткани и образованием в ней капилляров. В разные фазы раневого процесса степень васкуляризации неодинакова.



**Рис. 21.** Пролиферация эндотелиоцитов в пограничной зоне раны на 5-е сутки от начала эксперимента при ежедневной обработке оксидом азота. СЭМНП,  $\times 320$

**Рис. 22.** Меченые ядра эндотелиоцитов в МКА (PCNA) в зоне раны на 7-е сутки от начала опыта при ежедневной обработке монооксидом азота. Окраска МКА



Наши исследования с применением количественного метода подсчета длины капилляров на единицу объема грануляционной ткани выявили неравномерность скорости и интенсивности развития микрососудов в зависимости от условий микроокружения.

Суммарная длина капилляров в начальные сроки заживления прогрессивно нарастает. На 1–3-и сутки после операции (фаза травматического воспаления) у животных всех групп отдельные капилляры встречаются только в области жировой клетчатки дна раны. Они расширены, базальная мембрана разрушена. Ткани, окружающие микрососуды, содержат форменные элементы крови. Наблюдается смешанное полнокровие (рис. 18).

Начиная с 3–5-х суток эксперимента (начало второй фазы), отмечается интенсивное развитие капилляров грануляционной ткани. Они образуют почкующиеся выросты и эндотелиальные тяжи, сосудистые петли располагаются перпендикулярно поверхности раны. Протяженность сосудистого русла в 1 мм формирующейся грануляционной ткани в ранах у крыс второй и тре-