

На правах рукописи

МОСКАЛЕНКО
ВАДИМ ВЯЧЕСЛАВОВИЧ

**ЛИМФОТРОПНАЯ И ИИ-ТЕРАПИЯ В КОМПЛЕКСЕ ЛЕЧЕНИЯ
ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МЯГКИХ ТКАНЕЙ
В АМБУЛАТОРНО-ПОЛИКЛИНИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ
(КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.17 – хирургия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва 2018

Работа выполнена в филиале федерального государственного бюджетного военного общеобразовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская Академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

ЗУЕВ Валерий Ксенофонтович

Официальные оппоненты:

ВТОРЕНКО Владимир Иванович, доктор медицинских наук, профессор, президент Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения города Москвы»;

ХРУПКИН Валерий Иванович, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей хирургии федерального государственного автономного образовательного учреждения «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет);

Ведущая организация: ФГБОУ ВО Московский Государственный Медико-Стоматологический Университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России

Защита состоится _____ 2018 года в _____ часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.052.02 на базе ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (105203, г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, д. 70), ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (129110, г. Москва, ул. Щепкина 61/2).

С текстом диссертации можно ознакомиться в библиотеке Института усовершенствования ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России по адресу: 105203, г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, д. 65 и на сайте www.pirogov-center.ru

Автореферат разослан “___” марта 2018 г.

Ученый секретарь объединенного диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

С.А. Матвеев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы:

По данным отечественной и зарубежной литературы, около 70% заболеваний в амбулаторной практике хирурга составляют гнойно-воспалительные процессы мягких тканей (Блатун Л.А., 2007; Засорина М.А., 2014; Michael A. 2008; Parvizi J. et. al. 2012). Чаще всего в поликлинической практике среди гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей встречаются: инфицированные раны (в том числе - послеоперационные), фурункулы, карбункулы, абсцессы и флегмоны различных локализаций (Кавалерский Г.М., Выренков Ю.Е., 2005; Баулин А.А. и соавт. 2012; Минаков О.Е. и соавт. 2015).

В настоящее время в амбулаторной хирургии лечение гнойно-воспалительных процессов проводится комплексно с использованием нескольких методов. Одним из них является метод лечения ран с применением экзогенного монооксида азота (Кротовский Г.С. 2001г., Гостищев В.К., 2002; Халилов М.А., 2007; Шаманаев С.В. и соавт., 2009; Ларичев А.Б. и соавт., 2012). Актуальность применения экзогенного монооксида азота обусловлена доказанным положительным воздействием на процесс заживления раны, антисептическим эффектом и стимуляцией регенеративных процессов (Луцевич О.Э. и соавт., 2011; Шулутко А.М. и соавт. 2012).

Обязательным компонентом комплексного лечения гнойно-воспалительных процессов является антибактериальная терапия. Традиционно используются различные методы введения антибиотиков – пероральный, внутримышечный, внутривенный. Однако патогенетически обоснованное введение антибиотика в лимфатическое русло применяется достаточно редко (Ахмедов А.В. и соавт., 2004; Выренков Ю.Е. с соавт. 2009; Хачатрян Н.Н. и соавт., 2011; Абдувосидов Х.А. и соавт. 2015). При этом существует разработанная методика введения антибиотика лимфотропно,

положительно зарекомендовавшая себя при лечении гнойно-воспалительных процессов (Ярема И.В и соавт., 1999; Уртаев Б.М., Керимова Г.М., 2004). Сочетание лимфотропной антибиотикотерапии с обработкой раны монооксидом азота позволяет лечить гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей более эффективно. Лимфотропная терапия в сочетании с эффектом экзогенного монооксида азота стимулирует реакции регенерации тканей, позволяет оптимально управлять раневым процессом, что способствует уменьшению сроков лечения (Гурьев Г.С., 2010).

Таким образом, методика комплексного воздействия монооксида азота и лимфотропной терапии на течение раневого процесса при гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей дает положительный эффект, но требует дальнейшего изучения и широкого внедрения в хирургическую практику, особенно в амбулаторно-поликлинических условиях.

Цель исследования:

Повысить эффективность лечения больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей, используя комбинацию монооксидазотной терапии и лимфотропной антибиотикотерапии в амбулаторно-поликлинических условиях.

Задачи исследования:

1. Изучить в условиях экспериментального воспаления влияние монооксида азота и лимфотропной терапии на процессы регенерации тканей.
2. Изучить динамику концентрации антибиотика (цефотаксима) в раневом экссудате при его лимфотропном введении на фоне NO-терапии.
3. Оценить влияние комплексного лечения на иммунологическую реактивность больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.
4. Определить влияние содержания гистамина и уровня оксида азота в клетках крови на процесс воспаления.

5. Разработать и применить на практике патогенетически обоснованные схемы лимфотропной и NO-терапии у больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей в амбулаторно-поликлинических условиях.

Научная новизна исследования:

1. Выявлена эффективность сочетанного применения монооксида азота и лимфотропной терапии в лечении больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

2. Определены особенности воздействия экзогенного монооксида азота на иммунный аппарат организма человека и процессы репаративной регенерации.

3. В эксперименте определены критерии, позволяющие достоверно оценивать характер изменений эпителиоцитов и клеток соединительной ткани при воздействии NO-терапии.

4. Впервые изучено влияние монооксида азота и лимфотропной терапии на уровень оксида азота и уровень гистамина в клетках крови у больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

5. В сравнительном аспекте изучены результаты комбинированного применения монооксида азота с лимфотропной терапией и традиционных методов лечения больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей в амбулаторно-поликлинических условиях.

Практическая значимость:

Полученные данные позволили расширить возможности и улучшить результаты лечения больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей с помощью монооксида азота и лимфотропной терапии. Разработана и апробирована на практике методика комбинации NO-терапии и лимфотропной терапии при гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей в амбулаторно-поликлинической практике, в том числе и в полевых условиях при чрезвычайной ситуации. Полученные результаты лечения позволяют рекомендовать внедрение лимфотропной и NO-терапии в поликлиническую хирургическую практику как эффективный и

экономически обоснованный способ лечения гнойно - воспалительных заболеваний мягких тканей.

Положения, выносимые на защиту:

1. Лечение больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей с применением экзогенного монооксида азота и лимфотропного введения антибиотика позволяет снизить сроки лечения и количество осложнений.

2. Сочетанное воздействие NO - терапии и лимфотропной терапии усиливает иммунную защиту и стимулирует процессы репаративной регенерации тканей.

3. Применение NO-содержащих воздушно-плазменных потоков при лечении больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей способствует существенному снижению бактериальной обсемененности тканей, эффективно дополняя и усиливая эффект антибактериальной терапии.

4. Сочетанное применение NO - терапии и лимфотропной терапии позволяет сократить сроки амбулаторного лечения.

Реализация результатов исследования и апробация работы:

Результаты исследования используются в лечебной деятельности хирургических отделений и поликлиники ФГБУ «3 Центральный Военный Клинический Госпиталь им. А.А. Вишневого» МО РФ, ФГКУ «1586 Военный Клинический Госпиталь» Западного Военного Округа МО РФ. Работа выполнена на кафедре хирургии неотложных состояний и онкологии Филиала ФГБВОУ ВО «Военно- медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ. Фармакокинетические и морфологические исследования выполнены в клинико-экспериментальной лаборатории научного отдела оперативной хирургии и клинической лимфологии Российской медицинской академии последиplomного образования (руководитель – д.м.н., профессор Выренков Ю.Е.). По материалам работы опубликовано 18 научных работ, из них - 4 в

журналах из перечня ВАК Минобрнауки РФ. Основные положения диссертации доложены на научно-практических конференциях «III съезд хирургов юга России» (2013), «V-й съезд лимфологов России» (2014), «VI-й съезд лимфологов России» (2017).

Объем и структура диссертации.

Диссертация изложена на 113 страницах машинописного текста, иллюстрирована 52 рисунками, 20 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического указателя, включающего 164 источника, в том числе 128 отечественных и 36 зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

С целью изучения возможностей воздействия комплексного лечения на течение гнойно-воспалительного процесса, нами применена модель воспаления, которая разработана в отделе клинической лимфологии РМАПО. Все исследования проводили с соблюдением правил, изложенных в Конвенции по защите прав позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986), и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ №267 от 19.06.2003). Из эксперимента животные выводились путем передозировки средств для наркоза.

Воспроизведение модели достигалось следующим образом. Животным, белым крысам линии Vistar (самцы), подкожно в средней трети бедра вводили раствор, содержащий 60×10^9 тел золотистого стафилококка и, для ускорения процесса воспаления, подкожно вводился альфа-токсин (0,05 мкл). Через 36-48 часов от начала эксперимента в зоне введения микробного раствора в подкожно-жировой клетчатке формировался гнойно-

воспалительный очаг. У животных в месте формирования воспалительного инфильтрата проводили повреждение эпидермиса, предварительно очистив кожу от шерсти. Затем, путем скарификации моделировали гнойную рану. В серии опытов белые крысы (самцы) линии Vistar, возрастом 6-8 месяцев и весом 120-150 г, были разделены на 3 группы:

1) интактные (6 особей.);

2) животные с моделью гнойной раны, которых лечили традиционно (12 особей.);

3) животные с моделью гнойной раны, которым ежедневно обрабатывали зону повреждения NO-содержащими воздушно-плазменными потоками (содержанием NO- 300 ppm с экспозицией 10-15 сек на 1 см²) на фоне лимфотропного введения антибиотика цефалоспоринового ряда - цефотаксим (12 особей).

Лимфотропную терапию проводили путем введения в здоровую конечность животного раствора цефотаксима в дозе 0,01875 мг, которая соответствует рекомендациям по клиническому применению из расчета на вес животного (Ярема И.В. и соавт., 1999). Забор биоматериала из ран проводили через 1, 3, 5, 7 суток от развития гнойно-воспалительного процесса. С помощью методов гистохимии и иммуногистохимии выявлялись различные типы клеток (эпителиоциты, фибробласты).

Для обработки ран воздушно-плазменным потоком использовали аппарат «Плазон». В основу его работы положено воздействие на ткани человеческого организма потока воздушной плазмы для получения хирургического эффекта и потока газа, образованного путем охлаждения воздушной плазмы, содержащего молекулы монооксида азота для получения терапевтического эффекта (NO-терапия) (Пекшев А.В. и соавт., 1987).

Рациональная антибактериальная терапия гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей заключается в выборе препарата, к которому чувствительны соответствующие микроорганизмы и способностью его проникать через гистогематические барьеры (Justinger С., 2009). Спектр

микроорганизмов, способных вызывать заболевание, достаточно велик, что диктует выбор антибиотиков широкого спектра действия. Именно поэтому в лечении больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей в качестве стартового антибиотика зачастую применяют препарат с широким спектром действия (грамположительные, грамотрицательные, аэробные и анаэробные микроорганизмы). Учитывая рекомендации по клинической лимфологии и исследования фармакокинетики лекарственных препаратов (Левин Ю.М. и соавт. 1987; Выренков Ю.Е. и соавт., 2011), мы применяли лекарственное насыщение лимфатической системы цефотаксимом.

Лимфотропное введение антибактериального препарата позволяет увеличить продолжительность его терапевтической концентрации непосредственно в очаге воспаления, так как созревающие в лимфатических узлах лимфоциты способны адсорбировать на своей поверхности действующее вещество и доставлять его в зону лимфоцитарной инфильтрации воспалительного очага. (Ефименко Н.А. и соавт., 2001).

Послеоперационные раны у больных из обеих групп дренировались с помощью пенополиуретанового (ППУ) дренажа.

Для решения поставленных в работе задач нами было проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование и лечение 196 больных (39 больных лечились стационарно, 157 человек - амбулаторно) гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей в возрасте от 18 до 83 лет. Из них 142 (72.4%) были мужчины и 54 (27.6%) - женщины. Исследование проводилось на базе ФГКУ «1586 ВКГ» ЗВО МО РФ, г. Подольск; ФГБУ «3 ЦВКГ им. А.А. Вишневого» МО РФ, г. Красногорск; медицинского отряда специального назначения ФГУ «1586 ВКГ» МО РФ (в период участия автора в ликвидации последствий наводнения в Амурской области в августе-сентябре 2013 года) с 2011 по 2015 г. Средний возраст больных составил 31 год. С фурункулами, в том числе абсцедирующими, наблюдалось 78 больных (39.8%), с карбункулами-28 (14.3%), с абсцессами-38 (19.4%), с инфицированными ранами, в том числе в области хирургического

вмешательства-22 (11.2%), с вросшим ногтем-20 (10.2%) и с флегмонами 10 (5.1%) человек.

В данной группе так же были пациенты, страдающие соматическими заболеваниями, такими как, сахарный диабет- 20 человек (10.2%), сердечно-сосудистые заболевания- 32 человека (16.3 %) и хронические заболевания кожи 28 человек (14,3%).

В соответствии с клинической классификацией все наблюдаемые пациенты по локализации воспалительного процесса были распределены следующим образом (таблица 1).

Таблица 1

Распределение пациентов по пораженным анатомическим областям

Анатомические области тела	Число наблюдаемых больных			
	мужчин		женщин	
	Абс.	%	Абс.	%
Голова	4	2	2	1
Шея	8	4.1	3	1.5
Нижние конечности	68	34.7	24	12.4
Верхние конечности	31	15.8	13	6.7
Грудная клетка	8	4.1	4	2
Передняя брюшная стенка	7	3.6	4	2
Ягодичная область	16	8.1	4	2
Всего	142	72.4	54	27.6

Все больные обращались к хирургу в среднем на четвертый день от начала заболевания в результате ухудшения самочувствия, нарастания симптомов интоксикации, усиления болевого синдрома и прогрессирования симптомов заболевания после самостоятельного лечения.

Поступившие больные обследовались при поступлении до оперативного вмешательства, через сутки после поступления, на 3-и, 5-е сутки от начала лечения, а также в последний день амбулаторного лечения.

В зависимости от применяемого метода лечения больные были разделены на две группы. Первую, контрольную группу (n= 82) составили больные, которым проводилось традиционное лечение (из них 17 человек лечились стационарно). Традиционный метод включал в себя местное лечение - вскрытие и хирургическая обработка гнойного очага под местной или проводниковой анестезией, адекватное дренирование очага, ежедневный туалет раны растворами антисептиков (3 % раствор перекиси водорода, 1% раствор борной кислоты), наложением повязки с водорастворимыми мазями («Левомеколь», «Левосин»). Медикаментозное лечение состояло из применения антибиотиков широкого спектра действия (цефотаксим) в средних терапевтических дозах, внутримышечно в течение 5-7 дней, назначение анальгетиков и противовоспалительных препаратов, физиотерапевтическое лечение.

Вторую, основную группу (n= 114) составили больные, которым проводилось лечение с использованием воздушно-плазменных потоков и лимфотропной терапии (из них 22 лечились стационарно). Всем больным этой группы была выполнена операция по неотложным показаниям под местной инфильтрационной анестезией, а также под проводниковой или в ряде случаев под спинномозговой анестезией. Оперативное пособие заключалась в проведении хирургической обработки очага воспаления, эвакуации гнойного содержимого, тщательной ревизии раны, иссечении и удалении всех видимых нежизнеспособных тканей. Гемостаз производился по ходу операции. Полость очага санировали растворами антисептиков. На заключительном этапе операции выполнялась обработка раны воздушно-плазменными потоками с применением аппарата «Плазон» в щадящем режиме коагуляции или в режиме NO-терапии, с фиксацией уровня

микробной обсемененности и посевом микрофлоры на определение чувствительности к антибиотикам. Рана обязательно дренировалась пенополиуретановым дренажем. Операцию на конечностях при необходимости завершали иммобилизацией.

Все лабораторные исследования проводили по методикам, утвержденным приказом Министерства здравоохранения РФ №64 от 21.02.2000 "Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований". Нами изучались клинический анализ и биохимический анализ крови по основным показателям.

Нашей задачей было сопоставление содержания препарата в гнойном отделяемом из раны в разное время после его внутримышечного и лимфотропного введения. Цефотаксим вводили в дозе 1 г 1 раз в сутки. При внутримышечном введении инъекцию осуществляли по традиционной методике шприцем одноразового применения в область верхнего наружного квадранта ягодичной мышцы, а лимфотропное введение препарата осуществляли в модификации И.В. Яремы и соавт., (1999). Под кожу бедра больного на границе нижней и средней ее трети по передней поверхности вводили подогретый до 40°C 0,9% изотонический раствор натрия хлорида с избранным лекарственным препаратом (цефотаксим в дозе 1 г) с помощью набора разового использования. После введения иглы (длина 3-4 см, диаметр просвета 1 мм) в подкожную клетчатку, убеждались, что проколота кожа и из иглы не выделяется кровь. Иглу фиксировали лейкопластырем и соединяли с заполненной системой для переливания жидкостей. Сосуд с раствором укрепляли на стойке. По окончании подкожного введения жидкости приступали ко второму этапу. На всю конечность надевали чистый хлопчатобумажный чулок (колготки, пеленки), а на него 8-ми секционную манжету (сапог) от автоматической пневмокомпрессионной установки типа «ЛИМФА-Э». Пневмокомпрессию осуществляли в режиме «нарастающая волна», при котором давление в манжетах создается последовательно,

начиная с дистальной и заканчивая проксимальной секцией. Параметры работы задавали следующие: давление в манжетах 40-80 мм рт. ст., длительность цикла 15-20 с, продолжительность сеанса 20-30 минут. Забор гнойного отделяемого из раны проводили через 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24 и 36 часов после введения препарата. Исследовалась концентрация цефотаксима в раневом отделяемом методом вертикальной диффузии. Учитывая технические характеристики метода, забор материала для исследования осуществляли только при лечении больных в стационаре. Основная группа составила 22 больных (комплексная лимфотропная и NO-терапия), контрольная группа- 17 больных (традиционный метод лечения).

Измерение люминол-зависимой хемилюминесценции фагоцитов осуществляли на 1-е, 5-е и 7-е сутки с помощью прибора «Биолан ИЗ», включающем в качестве регистрирующего устройства ФЭУ со спектральной чувствительностью от 170 до 830 нм. Исследования проводились при комнатной температуре.

Определение в крови пациентов концентрации оксида азота осуществляли в макрофагах (моноцитах) и нейтрофилах. Для этого происходила инкубация макрофагов и нейтрофилов в специальных контейнерах, где в надосадочной жидкости определяли содержание оксида азота при помощи реактива Грисса. После этого оптическую плотность пробы измеряли при 540 нм на цитоспектрофотометре «Биолан ИЗ». По калибровочной кривой определяли концентрацию оксида азота.

Содержание гистамина в мазках крови у больных определяли следующим образом. Забор крови проводился из кубитальной вены с последующим нанесением на предметное стекло и фиксацией эфиром. Для выявления биогенных аминов применяли люминисцентногистохимический метод Фалька-Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной (1959). Мазки изучали под люминисцентным микроскопом «ЛЮМАМ-ИЗ». Интенсивность свечения измеряли в условных единицах флуоресценции шкалы регистрирующего прибора.

Для морфологического исследования мы использовали методику сканирующей электронной микроскопии нативных препаратов (СЭМНП). Анализ препаратов проводили сканирующим электронным микроскопом Phillips PSEM – 500 х.

Так же проводили иммуногистохимическое исследование клеток фибробластического ряда, эпителиоцитов кожи экспериментальных животных путем изготовления срезов, на которые наносили раствор первых моноклональных антител, ковалентных ядерному антигену пролиферирующих клеток (PCNA), полученных у мыши.

В ходе работы часть исследований субпопуляций лимфоцитов проводили с применением моноклональных антител (только у больных с тяжелым течением воспалительного процесса), позволяющим определить на поверхности клеток следующие кластеры дифференцировки (КД):

- КД3 – маркеры Т-лимфоцитов общих;
- КД4 – маркеры Т-хелперов;
- КД8 – маркеры Т-супрессоров;
- КД20 – маркеры В-клеток.

Функциональную активность Т-лимфоцитов определяли по экспрессии на их поверхности рецепторов к интерлейкину 2 и антигену, сходному с некоторыми тканями человека (HLADR).

Иммуноглобулины классов Ig G, M, A определяли методом иммуноферментного анализа.

В нашей работе мы также использовали индексный показатель:

Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) – отношения количества Т-хелперов к Т-супрессорам. На наш взгляд вычисление его достаточно эффективно. При идентификации этих клеток с помощью моноклональных антител показатель составляет 1,5-1,9.

Микробиологические исследования выполнялись в соответствии с рекомендациями по рациональной антимикробной фармакотерапии. Для суждения об эффективности NO-терапии у части больных гнойно-

воспалительными заболеваниями мягких тканей изучали бактериальную обсемененность тканей, взятых при хирургической обработке до и после воздействия монооксида азота аппаратом «Плазон-ВП» при экспозиции потока 15 с/см². Взятые ткани взвешивали, гомогенизировали и разводили 0,9% изотоническим раствором натрия хлорида в соотношении 1:100. Из полученной суспензии микропипеткой забирали 0,01 мл, жидкости и наносили распылением на твердую питательную среду в чашки Петри. После инкубации в термостате при t-37⁰С в течение 1 суток подсчитывали число колонийобразующих единиц (КОЕ) и перерасчитывали на 1 г ткани по формуле:

$$\text{Бактериальная обсемененность} = \frac{\text{Число КОЕ в чашке} \times 10^2 \times 10^2}{\text{Масса взятого материала.}}$$

Идентификацию бактерий осуществляли с помощью тест-набора «Микро-ЛА-тест» с 7 субстратами, позволяющего получить результат через 24 часа.

Для определения антибиотикочувствительности использовали отечественные тест-системы (ТПК-системы) с визуальным учетом результатов через 18 часов инкубации.

Полученные в ходе исследования данные были обработаны с применением методов статического анализа, принятых в современной медицинской науке (Беденков А.В. 2007).

Различия признавали статистически значимыми при вероятности $P \leq 0,05$.

При сравнении нескольких групп по количественным признакам использовали дисперсионный анализ с определением критических значений F. Сравнение двух групп по количественным признакам проводили с вычислением двустороннего t-коэффициента Стьюдента.

При сравнении двух групп по качественному признаку использовали χ^2 критерий Пирсона. Сравнение двух групп по качественному признаку при наличии в таблице сопряженности значения меньше 5, проводили с применением двустороннего варианта точного критерия Фишера.

При сравнении нескольких групп по качественному признаку проводили преобразования таблиц сопряженности.

При анализе зависимостей тесноту связи между двумя переменными определяли вычислением r коэффициента корреляции Пирсона. Отсутствие связи констатировали при $r=0$. При $r=-1$ и при $r=1$ связь между переменными определяли соответственно как обратную и прямую жесткую. При $-0,3 \leq r \leq 0,3$ связь определяли как обратную и прямую слабую. В каждом случае, если $r \neq 0$, вычисляли статистическую значимость корреляции при уровне значимости $\alpha \leq 0,05$. Влияние множества факторов на исход проанализировано с помощью модели Кокса.

Статистический анализ выполнен на персональном компьютере с использованием специальных программ медицинской статистики, SSPS v10.0 и STATISTICA v 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение

При определении пролиферативной активности эпителиоцитов (базалиоцитов) и фибробластов в условиях экспериментальной гнойной раны были выявлены следующие результаты.

Анализ полученных данных показал, что у интактных животных пролиферативная активность базалиоцитов составила $3,8 \pm 0,7$ окрашенных клеток (ОК), а фибробластов $1,4 \pm 0,3$ окрашенных клеток (ОК) в 1-е сутки после начала эксперимента. В последующие сутки пролиферативная активность эпителиальных клеток у животных 1 группы не изменялась. При сравнении пролиферативной активности в 1-е сутки после начала эксперимента выявлено, что пролиферация базалиоцитов и фибробластов у 3 группы животных ($1,9 \pm 0,1$ и $2,1 \pm 0,4$ ОК соответственно) почти в 2 раза выше,

чем у 2 группы ($1.9 \pm 0,1$ и $1,1 \pm 0,3$ ОК). Далее к исходу 3-5-7 суток, она прогрессивно нарастала в 3 группе. На 5-е сутки от начала эксперимента наблюдалось отсутствие организации соединительной ткани у группы животных с традиционным методом лечения ($3,7 \pm 0,7$ ОК и $4,5 \pm 0,9$ ОК), в то время как у 3 группы фибробласты и базалиоциты находились в стадии активной пролиферации ($8,1 \pm 1,5$ ОК и $9,3 \pm 2,1$ ОК).

На 7-е сутки от начала опыта в 3 группе животных эпителиальные клетки закрывают всю раневую поверхность (базалиоциты: $11,4 \pm 2,9$ ОК; фибробласты: $14,1 \pm 3,6$ ОК). В свою очередь во 2 группе цифры ОК базалиоцитов и фибробластов были почти в 2 раза меньше и составляли $5,8 \pm 1,3$ и $7,4 \pm 1,8$ соответственно.

Таким образом, результаты экспериментальных исследований показали, что значительно интенсивнее выражено побуждение к пролиферации при воздействии NO и лимфотропной терапии по сравнению с традиционными методами лечения.

Результаты фармакокинетических исследований

Концентрацию препарата в экссудате определяли через 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 часов после введения.

Анализ полученных данных показал, что максимальная концентрация препарата при внутримышечном введении соответствовала 6 часам (7.3 мкг/г), период полувыведения 9 часам (3.6 мкг/г), а минимальная концентрация сохранялась до 24 часов ($0,7$ мкг/г). При лимфотропном введении на фоне воздействия на очаг оксидом азота максимальная концентрация препарата зарегистрирована также через 6 часов (10.9 мкг/г), период полувыведения составил 12 часов (5.9 мкг/г), а минимальная концентрация сохранялась до 36 часов (0.6 мкг/г).

Таким образом, применение лимфотропного метода введения антибиотика при лечении больных гнойно-воспалительными заболеваниями

мягких тканей доказывает большую эффективность данной методики в сравнении с традиционным методом введения препарата:

- увеличение периода полувыведения;
- длительное сохранение минимальной концентрации;
- более высокая максимальная концентрация препарата в экссудате и более продолжительное время ее сохранения в нем.

Таблица 2

Концентрация цефотаксима (мкг/г) в раневом экссудате после лимфотропного и внутримышечного введения

Время введения до операции	Количество больных	Метод введения	Время взятия проб после операции (часы).							
			Раневой экссудат (мкг/г).							
			1	3	6	9	12	18	24	36
1 час	1 группа (17 человек)	В/м	4.3	7.3	7.9	3.6	2.2	1.3	0.7	0
	2 группа (22 человека)	ЛТ	3.7	6.1	10.9	9.3	5.9	3.5	2.0	0.6

При исследовании тучных клеток в первой группе (контрольная) антибиотик (цефотаксим) вводили традиционным способом и не проводили NO-терапии. Во второй группе (основной) цефотаксим вводили за 1 час до операции лимфотропно в дозе 1 г однократно (на фоне NO – терапии). Исследования проводили только тем больным, у которых гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей протекали наиболее тяжело. Забор материала (кровь) проводили до начала лечения, на 3-е, 5-е и 7-е сутки лечения. Исследования с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) выявили, что у контрольной группы больных тучные клетки подвергались дегрануляции. После комплексного лечения методом лимфотропной и NO- терапии большинство клеток депонируют

биологически активные соединения, что снижает активность процесса воспаления.

У больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей содержание гистамина в крови, как маркера воспаления, увеличивается. В норме этот показатель не должен превышать двух условных единиц. У пациентов до начала лечения содержание гистамина составило $14.9 \pm 1,17$ (1 группа) и $15.8 \pm 1,12$ (2 группа). После проведенного курса лечения с внутримышечным введением антибиотика снижение содержания гистамина до $6,9 \pm 1,1$ наступало к 7-м суткам. При лимфотропном введении антибиотика в сочетании с NO- терапией концентрация гистамина в крови к 7-м суткам лечения практически соответствует норме ($2,3 \pm 0,46$).

Таким образом, снижение уровня гистамина в крови показывает большую эффективность лимфотропной и NO-терапии при лечении гнойно-воспалительных процессов по сравнению с традиционным методом лечения.

Для изучения продукции активных форм кислорода (АФК), нами измерялась нормированная люминол-зависимая хемилюминисценция (ЛХЛ) фагоцитов периферической крови у больных основной и контрольной групп. Данные исследования представлены в таблице 3.

Таблица 3

Интенсивность люминол-зависимой хемилюминисценции фагоцитов в основной и контрольной группе (у.е.)

Группы больных	1-е сутки	5-е сутки	7-е сутки
Контрольная группа	$1,2 \pm 0,5$	$0,54 \pm 0,15$	$2,0 \pm 1,5$
Основная группа	$4,1 \pm 1,5$	$6,5 \pm 2,5$	$7,9 \pm 1,9$
Ио/Ик	3,41	12,03	3,95

Ио/Ик- отношение интенсивности ЛХЛ фагоцитов крови у больных основной и контрольной группы

При сопоставлении показателей интенсивности ЛХЛ фагоцитов периферической крови у пациентов основной и контрольной групп,

оказалось, что к 5-м суткам наблюдения отношение Ио/Ик достигает своего пика. Также в основной группе пациентов, которым проводилась комплексная лимфотропная и NO-терапия, интенсивность ЛХЛ оказалась выше, чем в контрольной группе. У этих же пациентов отмечалось явное увеличение продукции активных форм кислорода по мере течения раневого процесса и на фоне комплексной лимфотропной и NO-терапии. К 7-м суткам лечения больных основной группы, интенсивность ЛХЛ фагоцитов достигла своего пика, что прямо свидетельствует о снижении активности воспаления.

Результаты исследований показывают, что воздействие на гнойный очаг комплексной лимфотропной и NO-терапии вызывает значительный рост продукции активных форм кислорода фагоцитами в периферической крови, что способствует ускоренной регенерации клеток в очаге воспаления. По мере прохождения стадии воспаления, гранулоциты погибают, что ведет к росту содержания в ране активных лейкоцитов, ответственных за выработку цитокинов и факторов роста, которые активируют переход раневого процесса в стадию грануляции.

В дальнейшем мы определяли содержание оксида азота в периферической крови у пациентов основной и контрольной групп. Оксид азота способствует усилению биологической активности (вазодилатация микрососудов и уменьшение адгезивных свойств лейкоцитов и тромбоцитов), что обуславливает улучшение процессов микроциркуляции в тканях. Также оксид азота участвует в формировании микрососудов и стимуляции пролиферативной активности фибробластов. Результаты исследования способности фагоцитов синтезировать оксид азота у пациентов основной и контрольной группы представлены в таблице 4.

Таблица 4

Уровень продукции оксида азота

Группы больных	1-е	5-е	7-е
Контрольная	1,4±0,6	0,7±0,2	5,1±3,2

группа			
Основная группа	4,5±1,5	7,8±2,0	8,8±3,1

Из таблицы видно, что уровень продукции оксида азота фагоцитами у больных контрольной группы к 5-м суткам уменьшился. В свою очередь, в группе больных, получавших комплексную лимфотропную и NO- терапию, уже к 5-м и 7-м суткам продукция оксида азота значительно увеличилась по сравнению с исходным значением.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что в основной группе пациентов отмечалась повышенная продукция активных форм кислорода и оксида азота фагоцитами периферической крови, приводящая к стимуляции образования факторов роста, подавлению эндотоксинов и стимуляции пролиферативной активности фибробластов.

Результаты иммунологических исследований

Исследования показателей клеточных факторов иммунной защиты проводились у больных с наиболее тяжелыми формами гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей (флегмона и абсцесс различной локализации).

Исследования показали, что до лечения количество Т-общих в 1 и 2 группах составляло 43±4,5% и 42.0±3.2% соответственно (при норме 60-80 %).

Т-хелперов: 18,6±1,5% -1 группа и 19.0±1.3% -2 группа (при норме 35-45%), а Т-супрессоров 29.0±5,2% -1 группа и 28.5±4.7%- 2 группа (при норме 25-30%).

Количество В-лимфоцитов до начала лечения было повышено в обеих группах: 1 группа- до 19,6±1,4%, 2 группа- до 19,5±1,5%. Нормальные величины составляют 6-12 %.

Соотношение Т-хелперов и Т-супрессоров (иммунно-регуляторный индекс) было снижено более, чем вполонину: $0,6 \pm 0,29$ ед.- у больных контрольной группы и $0,7 \pm 0,35$ ед.- у больных основной группы, что указывает на напряжение иммунной реактивности организма (норма ИРИ= 1.5-1.9 ед.).

На 3 сутки традиционного лечения количество Т-общих снизилось до $40,0 \pm 2,7\%$, Т-хелперов – до $6,1 \pm 2,9\%$, а содержание Т-супрессоров возросло до $30,1 \pm 3,2\%$. Иммунно-регуляторный индекс составлял всего лишь 0,21 ед. Количество В-лимфоцитов осталось практически на том же уровне ($18,1 \pm 2,2$), как и в самом начале лечения.

На 3 сутки комплексной лимфотропной и NO терапии количество Т-общих было практически на нижней границе нормы ($58,0 \pm 5,1\%$), Т-хелперов – $26,7 \pm 4,2\%$, и отмечалось снижение Т-супрессоров ($21,0 \pm 1,6\%$). Это отразилось на иммунно-регуляторном индексе - он приблизился к нижней границе нормы(1,27). Кроме этого, отмечалось снижение В-лимфоцитов до $15,0 \pm 2,9\%$.

Через 7 дней при традиционном лечении у больных наблюдалось некоторое повышение Т-общих ($51,0 \pm 4,8\%$), Т-хелперов ($22,4 \pm 3,8\%$) и снижение Т-супрессоров ($23,2 \pm 2,1\%$), что выровняло иммуно-регуляторный индекс до 1,1 ед. Количество В-лимфоцитов по-прежнему оставалось повышенным ($15,0 \pm 1,8\%$).

В группе больных, которым проводилась комплексная лимфотропная и NO-терапия, фиксировали практически нормальные показатели по всем вышеперечисленным параметрам. Основным показателем в этом исследовании стал иммуно-регуляторный индекс, который составил 1,75 ед., что соответствует нормальным величинам.

При исследовании гуморального иммунитета нами была выявлена та же закономерность. До лечения у всех больных были повышены Ig G ($18,2 \pm 1,4$ г/л) и Ig A ($5,1 \pm 0,5$ г/л) и резко снижено количество Ig M ($0,4 \pm 0,04$ г/л).

Через 3 дня при традиционном лечении эти показатели были практически неизменными ($17,5 \pm 1,9$ г/л, $4,9 \pm 0,4$ г/л, $0,7 \pm 0,08$ г/л соответственно). А после проведения комплексной лимфотропной и NO-терапии уже через 3 дня выявлен рост показателей Ig G до верхней границы нормы ($13,6 \pm 1,9$ г/л), Ig A – до верхней границы нормы ($2,8 \pm 0,2$ г/л), Ig M – до нижней границы нормы ($1,2 \pm 0,09$ г/л).

Через 7 дней при традиционной терапии ранее указанные значения практически сохранились без изменений ($16,6 \pm 2,0$ г/л, $4,1 \pm 0,3$ г/л, $1,1 \pm 0,05$ г/л соответственно). А при комплексной терапии мы наблюдали адекватную иммунологическую реакцию по всем показателям гуморального иммунитета (Ig G= $12,8 \pm 1,6$ г/л, Ig A= $2,8 \pm 0,3$ г/л, Ig M= $1,5 \pm 0,08$ г/л).

Из вышесказанного следует, что показатели клеточного и гуморального иммунитета при применяемой нами комплексной лимфотропной и NO-терапии восстанавливались уже через 3 суток. При применении традиционных методов лечения, мы наблюдали подобные процессы только через 7 суток.

Результаты клинических исследований

Общая направленность изменений лабораторных показателей до начала лечения была примерно одинакова при анализе обеих групп больных. У большинства больных отмечался лейкоцитоз, палочкоядерный сдвиг лейкоцитарной формулы влево и повышение СОЭ.

Общий анализ крови, биохимический анализ крови и коагулограмму изучали у больных основной и контрольной групп до начала и на 5-е сутки лечения.

Проведение курса комплексной терапии приводило к относительно быстрой нормализации показателей крови. Например, без комплексной терапии содержание лейкоцитов и СОЭ оставались повышенными к 5 суткам после первичного обращения, а при комплексной терапии они не отличались от контрольных цифр у большинства пациентов к аналогичным срокам

наблюдения. У тяжелых больных в 14% случаев оставались повышенными содержание лейкоцитов в крови и у 15%- СОЭ превышала 12 мм/ч.

Биохимические исследования крови проводили только у больных с тяжелыми формами гнойных заболеваний мягких тканей. Они так же были разделены на 2 аналогичные группы. Из полученных результатов видно, что показатели фибриногена, глюкозы и общего билирубина были повышены у больных обеих групп до начала лечения. Это свидетельствует о наличии в организме процесса воспаления. А уровень общего белка, в свою очередь, наоборот был несколько снижен. Концентрации креатинина и мочевины существенно не превышали физиологическую норму. Наша статистика показывает, что к 5 дню лечения происходит нормализация всех биохимических показателей у больных после комплексного лечения. В свою очередь, при обычной методике лечения отклонения от нормы сохраняются в показателях фибриногена, сахара и общего билирубина.

Результаты, полученные в нашем исследовании, показывают, что в 54% случаев высеваются стафилококки, в 8%-кишечная палочка, в 28%-стрептококки. В 10% случаев в наших исследованиях высеивалась смешанная флора, чаще всего кишечная палочка сочеталась с другими микроорганизмами.

При этом, наибольшую чувствительность *in vitro* проявляли стрептококки. Резистентности к данному антибиотику не выявлено. Все высеиваемые бактерии были чувствительны к применяемому антибиотику – цефотаксиму. До обработки гнойной раны монооксидом азота число микроорганизмов на 1 г тканей раны превышало «критический» уровень обсемененности, при котором развивается воспалительный процесс. Непосредственно после обработки раневой поверхности плазменным потоком монооксида азота в режиме NO-терапии аппарата «Плазон-ВП» число КОЕ снижалось более чем на два порядка.

Лечение больных контрольной группы было современным, комплексным и включало в себя оперативное пособие, антибактериальную,

противовоспалительную терапию, физиотерапию, местное лечение. Больные основной группы лечились по тем же принципам, но комплексное лечение включало в себя NO-терапию и лимфотропное введение антибиотика.

В послеоперационном периоде клиническая симптоматика течения раневого процесса характеризовалась ранним и более выраженным снижением интенсивности боли по сравнению с пациентами контрольной группы. В 86% клинических наблюдений она сохранялась в течение 1-2 суток после операции.

У большинства больных (88%) гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей температура тела достигала фебрильных цифр и сохранялась таковой в течение одного-двух дней. Средняя её величина соответствовала $37,9 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ при минимальном уровне в $36,7^{\circ}\text{C}$ и термическом максимуме в $39,9^{\circ}\text{C}$. У некоторых пациентов на фоне гипертермии отмечался озноб (14%). Местная воспалительная реакция характеризовалась гиперемией и гипертермией кожного покрова, перифокальным отеком тканей. После проведенной операции, у основной группы больных указанные симптомы регрессировали в первые сутки и на 2-3 сутки в большинстве случаев практически полностью купировались (92%).

На 3-4 сутки после операции средняя температура тела больных равнялась $36,7^{\circ}\text{C}$, максимальная – $37,5^{\circ}\text{C}$. Следующие 5-9 сутки характеризовались благоприятным «клиническим завершением» раневого процесса- заживлением раны вторичным натяжением, либо первичным натяжением у больных, которым выполнялась хирургическая обработка ран с наложением вторичных швов.

Выводы

1. Воздействие NO и лимфотропной терапии оказывает положительное влияние на процессы регенерации тканей, способствуя ускорению заживления ран.

2. Наиболее оптимальным является лимфотропный метод введения лекарственных препаратов. Отмеченное повышение концентрации антибиотика в гнойном экссудате у больных связано с повышением процессов иммуноцитогенеза и рециркуляции клеток лимфоидного ряда на фоне воздействия монооксида азота. Лимфотропный метод позволяет уменьшить кратность введения до 1 раза в сутки, при этом суточная доза препарата соответствует разовой для внутримышечного введения.

3. Исследование иммунного статуса больных в ходе комплексной лимфотропной и NO-терапии выявило стабилизацию показателей гуморального и клеточного иммунитета через 3 суток после начала лечения.

4. Комплексная лимфотропная и NO-терапия способствует повышению продукции активных форм кислорода и оксида азота фагоцитами периферической крови, что ведет к усилению образования цитокинов, факторов роста и подавлению активности эндотоксинов.

В свою очередь, динамика изменения содержания гистамина может служить критерием эффективности применяемых методов в лечении воспалительных заболеваний.

5. Применение разработанной нами схемы комплексной лимфотропной и NO-терапии доказывает возможность ее эффективного применения в амбулаторно-поликлинических и военно-полевых условиях и позволяет снизить сроки лечения, в среднем, на 3 суток.

Практические рекомендации

1. Лечение больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей целесообразно осуществлять путем проведения радикальной хирургической обработки, обработки раневой поверхности монооксидом азота, лимфотропным введением растворов антибактериальных препаратов.

2. Комплекс лечебных мероприятий целесообразно проводить в следующей последовательности:

а. Хирургическая обработка гнойного очага должна выполняться в ранние сроки с момента поступления больного, в полном объеме;

б. Использовать потоки монооксида азота необходимо в режиме NO-терапии с расстояния 15 см от раневой поверхности в сканирующем режиме, направляя поток газа вертикально, из расчета 15 сек /см²;

в. Антибиотикотерапия проводится в день операции путем лимфотропной перфузии лимфатической системы. При этом создается под кожей передне-внутренней поверхности бедра лекарственный инфильтрат, состоящий из 200 мл 0,9% изотонического раствора натрия хлорида и 1 г цефотаксима. После чего проводят пневмокомпрессию конечности под давлением 40-90 мм рт. ст. посредством аппарата «ЛИМФА-Э», длительностью цикла 10-30 с, продолжительностью сеанса 20 мин.

3. В ходе проведения перевязок раны обрабатываются газовым потоком, содержащим монооксид азота манипулятором с использованием охладителя NO- СГП паравульнарно, по поверхности раны из расчета 15 сек /см² (при скорости потока 2 л/мин).

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

I. В изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Москаленко, В.И. Оксид азота и ангиогенез / В.И. Москаленко, А.А. Чомаева, В.В. Москаленко, А.В. Поваляев // Московский хирургический журнал. – 2012. – №2. – С. 27-32.
2. Выренков, Ю.Е. Применение оксида азота в хирургической практике / Ю.Е. Выренков, А.В. Есипов, В.А. Мусаилов, В.В. Москаленко, В.К. Шишло, А.В. Поляев // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. – 2014. – №1. – С. 33-40.
3. Ефименко, Н.А. Плазменная хирургия в военной медицине / Н.А. Ефименко, А.В. Есипов, В.А. Мусаилов, В.В. Москаленко // Воен.-мед. журнал. – 2014. – Т. 335, № 6. – С. 34-38.
4. Зуев, В.К. Комплексная лимфотропная и NO-терапия гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей в полевых условиях / В.К. Зуев, В.В. Москаленко, В.А. Мусаилов // Воен.-мед. журнал. – 2017. – Т. 338, № 6, – С. 72-73.

II. В других изданиях:

5. Есипов, А.В. Взаимодействие NO и лимфогенной терапии в хирургической практике / А.В. Есипов, В.А. Мусаилов, В.К. Шишло, В.В. Москаленко // Вестник лимфологии. – 2012. – №2 – С. 9-10.
6. Москаленко, В.И. Комплексное лечение перитонита с использованием NO-терапии / В.И. Москаленко, А.В. Есипов, В.А. Мусаилов, В.К. Шишло, В.В. Москаленко // III съезд хирургов юга России 18-20 сентября 2013 г. – Астрахань.: 2013. – С. 73-74.
7. Москаленко, В.И. Иммунологическая реактивность у больных перитонитом при воздействии NO и лимфотропном введении иммуномодулятора / В.И. Москаленко, А.В. Есипов, В.А. Мусаилов, В.К. Шишло, В.В. Москаленко // III съезд хирургов юга России 18-20 сентября 2013 г. – Астрахань.: 2013. – С. 146.
8. Москаленко, В.И. Экспериментальные исследования действия NO на раневой процесс / В.И. Москаленко, В.А. Мусаилов, В.К. Шишло, В.В. Москаленко // III съезд хирургов юга России 18-20 сентября 2013 г. – Астрахань.: 2013. – С. 146-147.
9. Гурьев, Г.С. Лимфатическая и NO-терапия в профилактике послеоперационных осложнений / Г.С. Гурьев, В.К. Шишло, И.К. Круглова, В.В. Москаленко // Вестник лимфологии. – 2013. – №2 – С. 29.
10. Москаленко, В.В. Влияние монооксида азота на пролиферативную активность эндотелия лимфатических сосудов кожи в условиях

экспериментального воспаления / В.В. Москаленко, Т.В. Кодина, Т.К. Цой, С.А. Кутовицкая, С.С. Качкачева // Вестник лимфологии. – 2013. – №2. – С. 30.

11. Москаленко, В.И. Влияние комбинированной NO и лимфатической терапии на микробный состав раны / В.И. Москаленко, В.В. Москаленко // Вестник лимфологии. – 2013. – №2. – С. 3.

12. Мусаилов, В.А. Экономический анализ эффективности комплексной лимфотропной и NO терапии / В.А. Мусаилов, В.И. Москаленко, В.В. Москаленко // Вестник лимфологии. – 2013. – №2. – С. 12-13.

13. Мусаилов, В.А. NO-терапия и лимфотропная антибиотикопрофилактика хирургической инфекции / В.А. Мусаилов, А.В. Лисовский, В.В. Москаленко // V-й съезд лимфологов России. – М.: 2014. – С. 66-72.

14. Выренков, Ю.Е. Роль лимфатической системы в патогенезе воспалительных процессов. Методы лимфатической терапии / Ю.Е. Выренков, В.И. Москаленко, В.В. Москаленко, В.К. Шишло, И.С. Круглова // V-й съезд лимфологов России. – М.: 2014. – С. 138-143.

15. Выренков, Ю.Е. Роль лимфатической системы в патогенезе воспалительных процессов. Методы лимфатической терапии / Ю.Е. Выренков, В.И. Москаленко, В.В. Москаленко, В.К. Шишло, И.С. Круглова // Вестник лимфологии. – 2014. – №2. – С. 4.

16. Зуев, В.К. Комплексная лимфотропная и NO-терапия гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей в условиях чрезвычайной ситуации / В.К. Зуев, В.В. Москаленко // Материалы юбилейной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 110-летию со дня рождения А.А. Вишневского: Актуальные вопросы лечебно-диагностической работы в многопрофильном госпитале. – Красногорск.: 2016. – С. 69-70.

17. Мусаилов, В.А. Пролиферативная активность клеток перитонеальной жидкости на фоне лимфотропной и монооксидом азота терапии у больных перитонитом / В.А. Мусаилов, В.И. Москаленко, В.В. Москаленко, А.С. Есипов // Альманах Института хирургии им. А.В. Вишневского – М.: 2017. – №1. – С. 1168-1169.

18. Москаленко, В.И. Применение методов лимфатической терапии в военно-полевых условиях / В.И. Москаленко, В.В. Москаленко // ЛИМРНА. – 2017. – №4. – С. 45.

