

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ЧИТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

На правах рукописи

Коннов Валерий Анатольевич

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ИММУНИТЕТА И ГЕМОСТАЗА У
БОЛЬНЫХ С МЕСТНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМОЙ ПРИ РАЗЛИЧНОМ
НУТРИТИВНОМ СТАТУСЕ**

14.03.03 - Патологическая физиология

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент
Шаповалов Константин Геннадьевич

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
1. Глава. Обзор литературы	10
1.1. Метаболизм при повреждении и стрессе.....	10
1.2. Генерация тромбоцитов, некоторых медиаторов гемостаза и иммунитета при повреждении и стрессе.....	16
1.3. Нарушения гемостаза и межклеточных взаимодействий при местной холодовой травме.....	23
1.4. Изменения в системе иммунитета при местной холодовой травме.....	26
1.5. Эффективность нутритивной поддержки.....	29
2. Глава. Материалы и методы исследования	34
2.1. Характеристика групп клинического наблюдения.....	35
2.2. Характеристика группы контроля.....	40
2.3. Характеристика клинического питания групп клинического наблюдения..	41
2.4. Методы исследования.....	43
2.4.1. Методы исследования трофического статуса.....	43
2.4.2. Методы исследования показателей гемостаза.....	45
2.4.3. Методы исследования медиаторов иммунного ответа.....	46
2.4.4. Методы исследования лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии.....	47
2.4.5. Методы исследования субпопуляционной структуры лимфоцитов.....	48
2.4.6. Методы описательной и сравнительной статистики.....	49
3. Глава. Результаты исследования	50
3.1. Исследование показателей гемостаза у пациентов с местной холодовой травмой III-IV степени в зависимости от нутритивного статуса.....	50
3.2. Исследование медиаторов иммунного ответа в сыворотке крови пациентов с местной холодовой травмой III-IV степени при эйтрофии и исходной нутритивной недостаточности.....	56
3.3. Исследование лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных с глубокими отморожениями конечностей в зависимости от нутритивного статуса.....	61
3.4. Исследование субпопуляционной структуры лимфоцитов у пациентов с эйтрофией и с исходной нутритивной недостаточностью, госпитализированных с отморожениями конечностей III-IV степени.....	63
3.5. Исследование количества тромбоцитов, содержания антитромбина-III в крови больных с местной холодовой травмой конечностей III-IV степени при нутритивной недостаточности после различных видов клинического питания.....	69
3.6. Исследование субпопуляционной структуры лимфоцитов в крови пациентов с отморожениями конечностей III-IV степени при трофической недостаточности после различных видов клинического питания.....	72
Заключение	78
Список сокращений и условных обозначений	93
Список литературы	95

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Холодовая травма является медицинской и социальной проблемой в странах с холодным и умеренным климатом, в том числе, и в большинстве регионов Российской Федерации [13, 23, 25, 63, 65, 69, 89, 109, 122, 129, 134, 148, 153, 168, 171, 175, 201, 202, 231, 234]. Так, в городе Чита ежегодно поступают на стационарное лечение больше 150 пациентов с общей и местной холодовой травмой. Краевой показатель госпитализации больных с отморожением в Забайкалье составляет 1,9 случаев на 10 тысяч населения в год [109].

Лечение больных с глубокими отморожениями связано с необходимостью выполнения целого ряда оперативных вмешательств: некрэктомия, экзартикуляция, ампутация сегментов конечностей, аутодермопластика, несвободная кожная пластика [89, 109, 138, 169]. При этом, у пострадавших не исключаются послеоперационные осложнения, такие как вторичный некроз, формирование гнойных затеков и костных секвестров, длительно незаживающих трофических язв, флегмон, отторжение трансплантата, и как следствие, – неоднократные реампутации нижних и верхних конечностей [109].

Значительная часть пациентов, поступающих в стационары, имеет существенные нарушения пищевого статуса, проявляющиеся у 20% как истощение и недоедание, у 50% нарушениями липидного обмена, до 90% имеют признаки гипо- и авитаминоза, у более 50% обнаруживаются изменения иммунного статуса [131]. При этом недостаточность питания значительно влияет на течение раневого процесса, исходы оперативных вмешательств, количество ранних и поздних послеоперационных осложнений, частоту нозокомиальных пневмоний, уроинфекций, синуситов, случаев вторичной полиорганной недостаточности, удлинение сроков искусственной вентиляции легких, увеличение расхода лекарственных веществ, препаратов крови, расходных материалов, увеличение сроков пребывания в ОРИТ и рост реанимационной

летальности [52, 59, 60, 66, 82, 111, 116, 130, 181, 193, 200]. Установлена когерентная связь между исходными нарушениями питания и характером клинического течения, прогнозом травматической болезни [80].

Учитывая фоновую патологию большинства пострадавших с местной холодовой травмой (алкоголизм), асоциальный образ жизни, бродяжничество, психические расстройства [64, 65, 134, 147, 158, 177, 188, 191, 201, 233], возможно предположить у таких пациентов преморбидные нарушения нутритивного статуса. По данным В.М. Луфта, нарушения трофического гомеостаза встречаются в клинической практике у 18-56 % больных, а в 89% случаев причиной неадекватного питания пациентов в стационаре является отсутствие диагностики белково-энергетической недостаточности [46, 67], исследования которой носят спорадический характер [78].

Постоянство в организме человека питательных веществ, баланс между их поступлением и возможностью ассимиляции наряду с оптимальным кислородным обеспечением являются решающими факторами преодоления многих патологических состояний [66]. Требуют уточнения механизмы метаболического ответа организма на хирургическую агрессию, повреждение любого генеза и в целом на стресс, в том числе и на термическую травму, приводящую к развитию общего адаптационного синдрома [36, 37, 79, 213].

В то же время, до настоящего времени не изучалась распространенность нутритивной недостаточности у пострадавших с отморожениями. Исследователями не освещены вопросы влияния трофического статуса на состояние систем гемостаза и иммунитета, модулирующие раневой процесс у больных с местной холодовой травмой. Учитывая особую функциональность дистальных сегментов конечностей, пациенты с глубокими отморожениями в 30-60% случаев становятся нетрудоспособными [65, 89, 109, 138, 140, 169, 172]. Поэтому, работа представляется актуальной в теоретическом и практическом отношениях.

Степень разработанности темы. Одной из причин неблагоприятного развития раневого процесса при местной холодовой травме является повреждение

сосудисто-нервного аппарата в сегментах конечностей, проксимальнее зоны некроза, когда возрастает активность миогенного и нейрогенного компонентов регуляции сосудистого тонуса, уменьшается артериальный и нутритивный кровоток [129]. Воздействие низкой температуры вызывает тотальный сосудистый спазм и прекращение локальной гемодинамики, а гипотермия способствует торможению метаболических и обменных процессов [101].

Вместе с тем, местная холодовая травма сопровождается выраженными изменениями состояния иммунитета и межклеточных взаимодействий. Нарушается фагоцитарная активность лейкоцитов, снижается содержание Т- и В-лимфоцитов, возрастает концентрация отдельных видов иммуноглобулинов, изменяется уровень белков острой фазы воспаления и активность системы комплемента [21, 24, 54]. В ранние сроки после холодовой травмы снижается число CD4+ клеток, при этом увеличивается относительное число лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов. Нарушается соотношение CD4+/CD8+ в сторону CD8+. Сдвиги в иммунограмме когерентны объёму холодовой травмы [74, 109, 129]. Степень иммунодефицита отражается в частоте развития гнойных осложнений в отдаленные сроки после холодовой травмы [185].

В то же время, в патогенезе повреждения тканей при холодовой травме значительное место имеют нарушения в системе гемостаза. Происходит укорочение АЧТВ, уменьшение МНО, повышается концентрация фибриногена и РФМК, возрастает экспрессия ТФ, при этом снижается уровень АТ-III и тормозится фибринолиз [18, 53, 83, 129]. Отмечается прямая зависимость концентрации АТ-III от частоты и уровня выполненных некрэктомий [109]. Активность лимфоцитарно-тромбоцитарных взаимодействий пропорциональна массиву поврежденных холодом тканей [129].

Однако остаются неисследованными механизмы изменений системы гемостаза, иммунитета, цитокинового статуса, межклеточных взаимодействий при отморожениях конечностей в зависимости от исходного трофического статуса и влияние нутритивно-метаболической терапии на динамику их состояния.

Цель исследования: выявление патогенетических механизмов изменений иммунитета и гемостаза, зависимых от нутритивного статуса, при отморожениях конечностей III-IV степени.

Задачи исследования:

1. Установить количество тромбоцитов, уровень ингибитора тканевого пути свёртывания крови и антитромбина-III в крови пациентов с глубокими отморожениями конечностей при эйтрофии и исходной нутритивной недостаточности.
2. Определить содержание IL-10 , $\text{TNF-}\alpha$ и неоптерина в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени при нормальном нутритивном статусе и преморбидной трофической недостаточности.
3. Оценить активность лимфоцитарно-тромбоцитарных взаимодействий у пострадавших с местной холодовой травмой конечностей III-IV степени при эйтрофии и исходной мальнутриции.
4. Установить субпопуляционную структуру лимфоцитов крови пациентов с глубокими отморожениями конечностей при нормальном трофическом статусе и преморбидной недостаточности питания.
5. Сравнить количество тромбоцитов, содержание антитромбина-III и субпопуляционную структуру лимфоцитов в крови больных с местной холодовой травмой конечностей III-IV степени при нутритивной недостаточности после различных видов клинического питания.

Научная новизна. Впервые установлено, что у пациентов с отморожениями III-IV степени при преморбидной трофической недостаточности уменьшается содержание в крови ингибитора внешнего пути свёртывания крови и антитромбина-III.

Впервые выявлено, что при исходной мальнутриции в раннем реактивном периоде местной холодовой травмы уменьшается относительное число лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов и количество тромбоцитов крови.

Установлено, что у пациентов с глубокими отморожениями конечностей при преморбидной недостаточности питания увеличивается содержание в крови неоптерина.

Впервые выявлено, что при исходной нутритивной недостаточности у больных с местной холодовой травмой III-IV степени уменьшается соотношение CD4+/CD8+ и увеличивается абсолютное количество в крови CD3+, CD3+CD8+, CD3+CD4+HLA-DR+.

Впервые установлено, что абсолютное количество активированных лимфоцитов крови пациентов с глубокими отморожениями конечностей и преморбидной мальнутрицией уменьшается, а абсолютное число В-лимфоцитов увеличивается при нутритивной поддержке с высоким содержанием глутамина и ω -3 полиненасыщенных жирных кислот.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты исследования позволяют уточнить некоторые патогенетические механизмы сдвигов в системах гемостаза и иммунитета при глубоких отморожениях конечностей и исходной недостаточности питания, тем самым, определить дополнительные критерии тяжести течения местной холодовой травмы и подчеркнуть прогностическую ценность диагностики нутритивного статуса у пострадавших.

Результаты работы внедрены в материалы лекций и практических занятий по обучению студентов для дисциплины «Анестезиология, реанимация и интенсивная терапия»; в учебное пособие, рекомендованное Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию ВУЗов России для системы послевузовского и дополнительного профессионального образования врачей: Шаповалов, К.Г. Интенсивная терапия термических поражений / К.Г. Шаповалов, В.А. Коннов, А.В. Михайличенко. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2013. – 91 с.

Методология и методы исследования. Нерандомизированное проспективное контролируемое исследование выполнено у 82 пациентов мужского пола с местной холодовой травмой. Объектом исследования являлись:

люди, их кровь, плазма крови, сыворотка крови и моча. Пациенты разделены на 2 группы клинического наблюдения по состоянию исходного трофического статуса.

Работа признана допустимой и рекомендованной к выполнению локальным этическим комитетом при ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» от 26.11.2010 г.

Клинико-функциональные наблюдения проведены на базе ожогового отделения ГУЗ «Городская клиническая больница №1» г. Чита. Параклинические исследования выполнены в «Лаборатории экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии», «Лаборатории физиологии и патологии иммунитета и гемостаза» НИИ медицинской экологии ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» и клинико-диагностической лаборатории ГУЗ ГКБ №1.

Методы исследования включали: измерение на напольных весах, сантиметровой лентой и адипомером, анализ суточной мочи на содержание креатинина, гематологический анализ, кинетический колориметрический метод, метод иммуноферментного анализа, расчёт относительного числа и степени лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии по методике Ю.А. Витковского, метод проточной цитофлюориметрии, непараметрические методы описания количественных признаков и непараметрические методы сравнения по количественному признаку.

Положения, выносимые на защиту:

1. Преморбидная трофическая недостаточность при местной холодовой травме конечностей III-IV степени приводит к уменьшению в крови количества тромбоцитов, снижению уровня основных естественных антикоагулянтов и депримирует лимфоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия.
2. У пострадавших с глубокими отморожениями конечностей исходная недостаточность питания сопровождается увеличением содержания в крови неоптерина, абсолютного числа цитотоксических и активированных Т-лимфоцитов, но не оказывает влияния на уровень провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

3. Клиническое питание с высоким содержанием глутамина и ω -3 полиненасыщенных жирных кислот модулирует количественные изменения субпопуляций лимфоцитов в крови пациентов с местной холодовой травмой конечностей III-IV степени и исходной нутритивной недостаточностью.

Степень достоверности и сохранности первичного материала, полученного в процессе работы над диссертацией, заключена комиссией, назначенной приказом ректора ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» №43 от 13.07.2015 г. Акт проверки от 28.08.2015 г.

Апробация работы проведена на заседании Проблемной комиссии по медико-биологическим наукам ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» 31.09.2015 г.

Результаты исследования доложены на Всероссийских конференциях: I-м и II-м Съезде анестезиологов-реаниматологов Забайкалья (г. Чита) в 2011-2013 гг., VIII-м, X-м и XI-м Байкальском конгрессе «Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии» (г. Иркутск) в 2011-2014 гг.; на IV-м Международном конгрессе по респираторной поддержке (г. Красноярск) в 2013 г.; опубликованы в тезисах к докладам конференций различного уровня и 4-х статьях в научных рецензируемых журналах, определенных ВАК Министерства образования и науки РФ для опубликования результатов диссертационного исследования.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Метаболизм при повреждении и стрессе.

Известно, что травма является мощным стрессом, запускающим целый комплекс нервных и гуморальных механизмов, ведущих к развитию общего адаптационного синдрома [36, 37, 79, 213].

Травматическая деструкция ткани вызывает острую местную воспалительную реакцию, активирующую макрофаги и эндотелиальные клетки, которые, в свою очередь, инкретируют большое количество медиаторов. Как провоспалительные, так и противовоспалительные цитокины высвобождаются для обеспечения адекватной адаптации к стрессу [17]. Нейроэндокринная реакция характеризуется активацией симпатической и гипоталамо-гипофизарной систем [28]. Это ведёт к высвобождению гормонов стресса: адреналина, норадреналина, кортизола, вазопрессина, гормона роста и глюкагона [28, 104]. И если время адренергической реакции, выброса гормона роста и вазопрессина длится секунды, то кортикотропная реакция задерживается на несколько часов [35]. Аддитивное действие обеих систем позволяет быстро и пролонгировано адаптироваться к стрессу [37].

Ещё с 80-х годов прошлого века известно, что стрессовые гормоны у больных в критическом состоянии активируют гликогенолиз [102]. Запасы гликогена истощаются за 12-13 часов, и организм вынужден реализовать свои энергетические потребности через глюконеогенез. Источником энергии в данном случае являются аминокислоты мышечных белков – «печь топится ассигнациями» [102].

Дэвидом Катберсоном в 1932 году выделяются две основные фазы, развивающиеся после большинства форм травм, включая хирургическое вмешательство: гиподинамическая (отлива, ослабления) фаза «ebb» и последующая гипердинамическая (прилива, усиления) – фаза «flow» [137, 144]. Фаза «ebb» длится 12-24 часа, сопровождается периферической вазоконстрикцией, тканевой гипоперфузией, уменьшением потребления

кислорода, основного обмена, скорости окисления глюкозы и гипотермией. На этом фоне катехоламин-индуцированный гликогенолиз и глюконеогенез приводят к стрессовой гипергликемии [46, 68, 98].

Фаза «flow» наиболее ярко проявляется с 3-5-х по 10-12-е сутки постагрессивного воздействия [46]. Клиническая картина гипердинамической фазы характеризуется отёком ткани, повышением сердечного выброса, гипертермией, гиперинсулинемией, высокой скоростью синтеза и окисления глюкозы, острофазовой реакцией, а также катаболическими превращениями: протеолизом, активным глюконеогенезом и липолизом с повышенным образованием свободных жирных кислот. Отёк ткани является результатом вазодилатации и увеличением капиллярной проницаемости. Повышенный сердечный выброс объясняется вазодилатацией, увеличением потребности в доставке и потреблении кислорода и нутриентов. Текущая острофазовая белковая реакция иллюстрируется нарастанием количества С-реактивного белка, фибриногена и падением уровня альбумина [46, 200]. Гипергликемия, а также повышение уровня свободных жирных кислот возможна и в фазу «flow» за счёт феномена инсулинорезистентности [46, 68, 98]. Несмотря на высокий уровень инсулина в фазу прилива, скорость усвоения глюкозы в периферических тканях снижается. Гипергликемия развивается вследствие одновременного увеличения выработки глюкозы, в то время как поглощение глюкозы клетками, чувствительными к инсулину, а именно, печень, скелетные мышцы, миокард и жировая ткань становится более резистентным к его действию [46, 68]. Синтез глюкозы в печени обеспечивается катаболическим дезаминированием эндогенных аминокислот и большими потерями азота, отсутствует азотсберегающий эффект глюкозы [111, 116].

Рана является областью повышенной метаболической активности. Лактат, образующийся в ране, переносится в печень, где он превращается в глюкозу в цикле Кори, процессе, потребляющем энергию. Активированные воспалительные клетки в ране обладают способностью высокого потребления кислорода и высвобождают определённое количество цитокинов интерлейкина (IL) 1 β и

фактора некроза опухолей (TNF) α , которые изменяют центральную регуляцию метаболической активности [190, 192].

Хирургическая травма и последующая стрессовая реакция ведут к увеличению расхода энергии на 15-20% выше прогнозируемых значений в здоровом состоянии. Повышение энергозатрат вызвано на фоне других причин переустановкой верхней точкой терморегуляции, что приводит к увеличению выработки энергии через повышенную активность симпатической системы. Также увеличение симпатической активности может стимулировать метаболическую скорость с помощью повышения оборота субстратов между неэстерифицированными жирными кислотами и триглицеролом, глюкозой и её производными [46, 116].

Известно, что у людей с нормальным составом тела запас жира составляет от 15 до 30% веса и представляет собой главное энергетическое депо [71,81]. Критическое состояние нарушает липидный обмен, что проявляется увеличением липолиза и уменьшением липогенеза. Под действием стресс-гормонов и провоспалительных цитокинов подавляется активность липопротеинлипазы и снижается утилизация жирных кислот и триглицеридов [46].

Реакция на хирургическую травму значительно отличается от реакции на простое голодание. Во время простого голодания все органы теряют массу [200]. Однако, в ходе течения хирургической травмы, если мышцы, жировая ткань, кожа подвергаются катаболизму [116, 225], то в других органах, таких как сама рана, иммунная система, печень – преобладают анаболические процессы [143, 151].

Так как аминокислотный состав протеина, синтезированного центрально, значительно отличается от аминокислотного состава белка, расщепляющегося в мышцах, то это приводит к потере азота. Подсчитано, что 7 грамм мышечного белка необходимо для последующего синтеза 1 грамма фибриногена в печени [167]. Однако атрофирующее действие стрессовой реакции на мышцы рассматривается как важный адаптивный механизм в момент снабжения органов, играющих жизненно-важную роль в процессе заживления после травмы и болезни, энергией и пластическим материалом [143].

Если у здорового человека потребность в энергии составляет в среднем 25-30 ккал/кг/сутки, то уже при малом хирургическом вмешательстве она увеличивается до 35 ккал/кг, при гастрэктомии – до 40, а при политравме становится равной 50-70 ккал/кг/сутки. В случае тяжёлого сепсиса, черепно-мозговой травмы или ожоговой болезни суточная энергетическая потребность может возрастать до 80 ккал/кг [52]. Эти же самые гиперметаболические ситуации, но в отсутствии стандартной диеты и без нутритивной поддержки или при недостаточном искусственном питании неизбежно приведут к деструкции белков мышечной массы. Глюконеогенез характеризуется дезаминированием аминокислот и синтезом мочевины. Известно, что содержание азота в белках составляет около 16%, поэтому 1 грамм элиминированного азота эквивалентен 6,25 г белка и 25 г мышечной массы соответственно [44, 102].

Азотистые потери достигают при выраженном стрессе до 30 г, а при ожоговой травме и до 40-50 г за 24 часа [75]. Расход скелетной мускулатуры равен в данных случаях 0,7-1,0 кг и больше в сутки. Тем самым, по выражению Г.А. Рябова, организм «поедает самого себя» [102], или по терминологии настоящего времени, имеет место аутоканнибализм, гиперкатаболизм, синдром гиперметаболизма-гиперкатаболизма [52, 75, 130]. В любом случае, редукция тощей массы тела приводит к белково-энергетической недостаточности.

Дополнительные потери мышечной массы вызваны высокой потребностью в одной из полуэссенциальных аминокислот – глутамине. У пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) при концентрации в крови глутамина меньше 0,42 ммоль/л смертность вдвое выше, чем при его нормальном содержании [52, 205]. Глутамин рекомендован (оценка доказательности А) в дозе 0,5 г/кг в сутки в стандартных энтеральных формах и 0,4 г/кг парентерально у ожоговых больных, пациентов с травмой и в критических состояниях [163, 165]. Глутамин является наиболее распространенной свободной аминокислотой в человеческом организме и находится в большем количестве и в большей концентрации, чем любая другая аминокислота. Хотя он может производиться любыми клетками из α -кетоглутерата и глутамата через глутамат

аминотрансферазу и глутаминсинтетазу, основной объём производства приходится на скелетную мускулатуру [200].

Исследовано, что количество потребляемого глутамина в постагрессивном периоде клетками желудочно-кишечного тракта, почек и иммунными клетками составляет 18-22 грамм за 24 часа [46]. С учётом выделения глутамина из мышц, отрицательный баланс этой незаменимой в условиях стресса [40, 130, 135, 180, 200] аминокислоты равен 10-12 граммам [46]. Помимо этого, на фоне травмы аминокислоты, извлечённые в результате мышечного катаболизма, не высвобождаются для циркуляции как таковые, но большая часть, особенно аминокислоты с разветвленной цепью, необратимо распадаются для производства глутамина [137, 139].

В целом, потребителями глутамина являются клетки, подверженные фульминантной пролиферации, а именно, энтероциты, фибробласты, лимфоциты, макрофаги и моноциты [40]. В эксперименте при парентеральном введении глутамина увеличивалась дифференцировка Т- В-лимфоцитов у животных с системным воспалением [135], *in vitro* в среде без глутамина возрастал апоптоз нейтрофильных гранулоцитов [135]. Кроме этого, с применением глутамина происходила эскалация фагоцитарной активности нейтрофилов, моноцитов и макрофагов, улучшалась антигенпрезентирующая функция последних [135].

Понятие о метаболической дисфункции как о генерализованной метаболической реакции на системное воспаление возникло сравнительно недавно [59]. Системная воспалительная реакция является следствием грубой нейроэндокринной и гуморальной дисрегуляции, сопровождается системным эндотелиозом и, в конечном итоге, приводит к перераспределению циркулирующего объёма крови и респираторному дисбалансу. В то же время, модулируются и основные метаболические процессы в сторону гиперметаболизма, неадекватного потребления энергосубстратов и пластического материала, белкового катаболизма, высокой потребности в глутамине [59]. В зависимости от выраженности стресса и тяжести катаболической реакции, важное

для синтеза эндогенного белка соотношение небелковых калорий к азоту уменьшается от 150-130 до 120-100 ккал/г [52, 60, 61, 111].

Если в норме ткани получают энергию путем окисления субстратов, приносимых кровью, а также расщеплением эндогенного гликогена, и в клетке энергия запасается в виде циклических фосфатов, то ишемия приводит к прекращению или значительному ограничению притока в клетку нутриентов и кислорода [100].

Анаэробный метаболизм характеризуется неспособностью поддержать в клетке нормальный уровень высокоэнергетических фосфатов за счёт гликолиза. Распадается аденозинтрифосфат (АТФ), увеличивается содержание в клетке аденозина, инозина и гипоксантина, инактивируется фермент АТФ-аза, триггирующий калий-натриевый насос клеточной мембраны [173]. Согласно осмотическому градиенту концентрации, в клетку проникает натрий и хлор, развивается внутриклеточная гипергидратация. Митохондриальное окисление становится невозможным, кальций проходит в цитозоль и митохондрии [100]. Сложившийся обмен веществ непродолжительное время использует запасы глюкозы для генерации АТФ, но при этом образуется молочная кислота, возникает внутриклеточный ацидоз, активируются лизосомальные ферменты, что приводит в конечном итоге к гибели клеток [173].

Анаэробный сценарий метаболических нарушений встречается у пациентов с глубоким отморожением, когда в области паранекроза открываются артериовенозные шунты и отключается нутритивное русло микроциркуляции [129]. Характер повреждающего агента негативно влияет на репаративные возможности тканей. По сравнению с механической травмой и ожогами отмечается более затяжное течение заболевания с худшими функциональными результатами [8, 18, 58, 109].

Возможно, что недостаточность питания, сопровождающая неблагоприятное течение раневого процесса у хирургических и травматологических больных [46, 61, 67, 82, 116, 130, 131, 193, 200], оказывает негативное влияние и у пострадавших с глубоким отморожением независимо от

наличия генерализованного воспаления. Данное предположение требует дополнительного изучения.

1.2. Генерация тромбоцитов, некоторых медиаторов гемостаза и иммунитета при повреждении и стрессе.

Наряду с гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором, действующим на уровне клеток-предшественников, мегакариопоэз регулируется тромбоцитопоэзстимулирующим фактором – тромбопоэтином [146]. Последний представляет собой комплекс полипептидов с молекулярной массой меньше 10 kD, является цитокином, синтезируется в печени, селезёнке, лёгких, почках и костном мозге, а депонируется в α -гранулах тромбоцитов [55]. Тромбопоэтин влияет на тромбоцитопоэз в фазу эндомитотического развития мегакариоцитов и на их последующую дифференцировку [146]. Кроме того, данный цитокин принимают участие в стимуляции эритропоэза, так как увеличивает количество ретикулоцитов, нормоцитов и их выход из костного мозга [54].

В печени, почках и непосредственно в мегакариоцитах синтезируется с-Mpl – рецептор кровяных пластинок и всех других клеток мегакариоцитной фракции. Тромбопоэтин конъюгируется с полиэтиленгликолем и выступает в качестве агониста с-Mpl, инициируя созревание цитоплазматических структур, эндомитоз незрелых мегакариоцитов, эскалацию их размеров, экспрессию в них гликопротеинов, развитие мембранной демаркационной системы с последующей их компартментализацией, а также синтез множества белков α -гранул тромбоцитов [54].

В свою очередь, белки, продуцируемые субпопуляциями α -гранул регулируют продукцию тромбопоэтина: фактор роста, фактор роста фибробластов активируют, а фактор тромбоцитов 4, тромбоспондин-I и трансформирующий фактор роста β – ингибируют экспрессию гена мРНК тромбопоэтина [55]. Наряду с этим, тромбоспондин-I обладает способностью индуцировать апоптоз мегакариоцитов [184].

Активированные тромбоциты в процессе свёртывания крови выбрасывают тромбопоэтин из α -гранул, и его содержание возрастает по мере уменьшения количества кровяных пластинок, в том числе и при ДВС-синдроме [211]. Известно, что IL-1 совместно с IL-6 стимулируют созревание мегакариоцитов и образование тромбоцитов [55, 146]. В экспериментах Л.И. Бурячковой не подтвердилось влияние интерлейкинов 2 и 6, инкубированных на 3 минуты при 37°C с плазмой с нормальным числом тромбоцитов на их форму, агрегационную способность и количество протромбоцитов [88]. В то же время, IL-11 в присутствии тромбопоэтина, катехоламины активируют пролиферацию мегакариоцитов [10], а интерфероны и TNF- α , угнетают продукцию кровяных пластинок [55]. Кроме того, увеличивает генерацию, дифференцировку мегакариоцитов и отрыв от них тромбоцитов нейромедиатор серотонин [184], он же подавляет индуцированный тромбоспондином-I мегакариоцитарный апоптоз [184].

Причинами тромбоцитопении при сепсисе помимо ДВС-синдрома являются повышенная адгезия, миграция в лёгкие и разрушение кровяных пластинок через экспрессию их толл-подобного рецептора 4, при которой липополисахариды грамотрицательных бактерий индуцируют дифференцированный выброс тромбоцитами провоспалительных цитокинов [186, 210, 221].

Между гемостатическими и воспалительными реакциями при альтерации ткани прослеживаются многочисленные взаимосвязи, в которых ключевым звеном выступают реципрокные отношения полиморфноядерных лейкоцитов, тромбоцитов и эндотелиальных клеток [17]. Реализация механизмов защиты сопровождается повышением адгезивной активности кровяных пластинок к лимфоцитам. Тромбоциты интенсифицируют фагоцитоз через высвобождаемые факторы и за счёт своей ретракции способствуют миграции лимфоцитов через повреждённую сосудистую стенку вглубь ткани. Кровяные пластинки при этом секретируют множество ростовых факторов, стимулирующих репарацию поражённого участка. Представленный паттерн носит название лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) или феномена Витковского [14-16].

Местом синтеза антитромбина-III (АТ-III) – белка α_2 -глобулина с молекулярной массой 58,2 kD является печень. В меньшей степени АТ-III генерируется эндотелиоцитами. Период его полужизни составляет от 48 до 72-х часов, наибольшее содержание данного коагулянта зарегистрировано в печени, затем в сердце и селезёнке [54]. Его содержание уменьшается при патологических состояниях, связанных с дисфункцией эндотелия: атеросклерозе, тромбозах, сахарном диабете, гипертонической болезни [11, 222].

Известно, что АТ-III взаимодействует с сериновыми протезами внутреннего пути свёртывания крови в эквимольном соотношении 1/1 [54]. В то же время, пентасахариды гепарина обуславливают его высокое, в отличие от АТ-III, родство с глюкозаминогликанами – кислыми полисахаридами защитного слоя эндотелиоцитов – гликокалекса [121]. Отрицательный заряд сульфогрупп и карбоксильных групп гепарансульфатного и других протеогликанов базальной мембраны эндотелия образует ионные пары с положительно заряженными аминокислотными кластерами гепарина [119, 149, 189]. При этом взаимодействие А-III с протеогликановыми рецепторами индуцирует продукцию антиагреганта простаглицина [146].

Скорость инактивации антитромбином-III фактора IIa в присутствии гепарина увеличивается до 5000 раз. Происходит это в результате изменения гепарином конформации АТ-III, у которого петля с активным центром перемещается наружу, что позволяет одной молекуле АТ-III взаимодействовать с несколькими молекулами тромбина [2]. Известно, что катализатором диссоциации комплекса TF:VIIa, вызванного АТ-III, также служат гепариноподобные сульфатированные полисахариды – гликозаминогликаны базальной мембраны эндотелиоцитов, что позволяет данному антикоагулянту оказывать влияние и на внешний путь свёртывания крови [2, 3].

У людей встречаются две, независимо действующие структурные формы ингибитора пути тканевого фактора: α и β . N-концевой кислотный участок обеих изоформ содержит протеиназингибирующий домен Kunitz 1-го типа, депримирующий тканевой фактор (TF) и фактор VIIa, а также домен Kunitz-type-

2, подавляющий активность Ха фактора. Адьювант второго домена – Kunitz-type-3 inhibitor Domain имеется только в ингибиторе внешнего пути свёртывания крови (TFPI)- α . В этой же изоформе С-концевой участок неаффинно связывается с эндотелиальными гликозамингликанами, а специфическим якорным рецептором к TFPI- α на поверхности эндотелиоцитов является гликозилфосфатидилинозитол. Через последний рецептор непосредственно к клеточной мембране фиксируется TFPI- β своим С-концевым участком [54].

TFPI- α имеет массу в 35-40 kD, синтезируется главным образом эндотелиоцитами сосудов лёгких и сердца, в меньшей степени – миоцитами аорты и других сосудов, астроцитами и олигодендроцитами. TFPI- α содержится в специальных эндотелиальных гранулах, а также на поверхности мембраны в комплексе с тромбоспондином-1 и глюкозаминогликанами [54]. Тромбин и низкомолекулярные гепарины стимулируют выброс в кровь TFPI- α [99], который находится в плазме или в связанном виде с аполипопротеином АII или без образования с кем-либо комплекса [219]. TFPI- β представляет собой более слабый антикоагулянт [154], в норме содержится только в эндотелиоцитах, но при развитии атеросклероза выявляется в миоцитах, а также макрофагах и CD3+, входящих в структуру бляшек [166].

Известно, что ингибитор внешнего пути свёртывания крови вместе с комплексом TF:VIIa блокирует активацию тромбиновых рецепторов PAR-1 [218]. Возможно, также, что другой естественный антикоагулянт – протеин S модулирует конформацию фактора Стюарт-Прауэра, делает его более доступным для ковалентной связи с доменом Kunitz-type-2, следовательно, является кофактором TFPI [212].

В свою очередь тромбин, плазмин и фактор Ха, являясь сериновыми протеиназами, расщепляют α -изоформу TFPI, и тот становится неспособным связываться с протеогликанами эндотелиоцитов. Кроме того, при воспалении активированные лейкоциты выделяют матричную металлопротеазу, которая расщепляет α -изоформу за счёт гидролиза экстрацеллюлярного матрикса [179].

Тромбин воздействует на PAR-1, в результате чего повышается уровень простагландинов, провоспалительных цитокинов, эндотелинов и экспрессия адгезивных белковых молекул, уменьшается содержание TFPI [56, 92]. Эндотелины стимулируют ETa рецепторы лёгочных сосудов с образованием тромбоксана A₂ (TxA₂) и последующей вазоконстрикцией и ETв, приводя к дилатации сосудов лёгких [54].

Оксид азота (NO) уменьшает вазоконстрикцию, обусловленную TxA₂ [70], но дилатируются артерии только в присутствии простагландина I₂ (Pgl₂) [118]. Известно, что простаглицлином вызывается гиперполяризация мембраны клеток гладкой мускулатуры [118]. Интерферон (IFN)-γ увеличивает содержание L-аргинина в клетках, продуцирующих NO, напротив, IL-10 повышает активность аргиназы, соответственно, уменьшается уровень L-аргинина и синтез NO [56]. TNFα активирует эндотелиальную синтетазу, тем самым увеличивается продукция оксида азота [161].

При дисфункции эндотелия возникает дисбаланс в секреции вазодилататоров и вазоконстрикторов, в частности повышается синтез и содержание в крови эндотелина-I [9, 19, 118]. Увеличивается адгезия и агрегация тромбоцитов за счёт уменьшения продукции простагландина I₂ и оксида азота, увеличения синтеза тромбоксана A₂ и vWF [42, 161]. Возрастает инкрипция TF [56] и количество микровезикул, на поверхности которых располагается TF [33]. Повышается количество слущенного эндотелия [126]. В целом, нарушается равновесие в продукции факторов гемостаза и фибринолиза [56].

В качестве интегрального показателя активации клеточного иммунитета в литературе указывается на неоптерин [103]. Клеточный иммунитет – это комплекс реакций, осуществляемых лимфоцитами и фагоцитами без участия эффекторов гуморального иммунитета – антител. Однако, поскольку строгое разделение клеточного и гуморального иммунитета невозможно, данный термин используется при описании такого противоиnфекционного и противоопухолевого иммунного ответа, в котором антителам принадлежит не ведущая, а вспомогательная роль [123].

Неоптерин детектируется при значительном количестве патологических состояний [7, 32, 76, 77, 128, 197, 204, 206, 215, 230, 232], в том числе с развитием генерализованного воспаления [160, 195, 203]. Более того, опубликованы исследования о неоптерине, как о маркёре нутритивной недостаточности и критерии мальнутриции, ассоциированной с системным воспалением [196, 214]. Известно также, что метаболическое истощение сопровождается высоким содержанием в крови цитокина-«кахектина» – фактора некроза опухолей альфа [38].

Птеридин неоптерин (D-эритро1',2',3',-тригидроксипропил) синтезируется из гуанозинтрифосфата, преимущественно в моноцитах и макрофагах, в меньшей степени – дендритных клетках, образующихся из моноцитов и в незначительном количестве в Т-лимфоцитах [194]. Интермедиатом синтеза птеринов является 7,8-дигидронеоптеринтрифосфат, который в клетках неиммунной системы: эндотелиальных, эпителиальных почечных и фибробластах трансформируется до H4-биоптерина [103].

Основным стимулом продукции неоптерина признаётся IFN- γ – цитокин Т-хелпер-1 типа иммунного ответа [103]. Известно, что интерфероном- γ индуцируется активность клеточных фосфатаз, ответственных за появление неоптерина в моноцитах/макрофагах и Т-лимфоцитах. Напротив, дендритные клетки более чувствительны к действию интерферонов I типа [194].

Помимо IFN- γ , такие Th-1 цитокины, как TNF- α и интерлейкин-2 усиливают образование неоптерина. Действие IL-2 связывается со стимуляцией выработки IFN- γ Т-клетками [41, 103]. TNF- α непосредственно влияет на интерферонзависимую продукцию неоптерина [103]. Вышеперечисленное позволяет считать данный птерин одним из универсальных и информативных серологических маркеров Th-1 типа иммунного ответа, тем более, что концентрация в крови цитокинов переменна [203], а неоптерин является стабильным химическим соединением [103].

В то же время, Th-2 цитокины IL-4 и IL-10 подавляют эффект IFN- γ на синтез неоптерина активированными моноцитами/макрофагами. Кроме того IL-4

ингибирует продукцию данного птерина неиндуцированными моноклеарными клетками [103]. Реципрокный характер цитокиновой сети оказывает влияние на генерацию неоптерина [103], в том числе через подавление пролиферации Th-2 клеток интерфероном- γ и угнетение интерлейкином-10 образования цитокинов Th-1 типа [41].

Наряду с этим, глюкокортикоиды являются селективными супрессорами продукции IFN- γ антигенпрезентирующими и T-клетками [159], уменьшают экспрессию РНК фосфатаз, что негативно отражается на синтезе неоптерина [103].

Известно, что неоптерин участвует в Ca-индуцированной активации моноцитов/макрофагов, изменяя проницаемость их кальциевых каналов. Корреляция уровней неоптерина и активных форм кислорода служит основанием рассматривать данный птерин непрямым маркером развития оксидативного стресса при воспалении [103]. Вместе с тем, интермедиат синтеза птеринов реагирует со свободными радикалами, предотвращая их окислительное действие на клеточную мембрану моноцитов, а окисленный неоптерин ингибирует активность макрофагальных ферментов, продуцирующих активные формы кислорода [103].

Опубликованы данные, что тромбоциты экспрессируют ядерный фактор (NF) - κ B [54, 93, 146]. Модуляция неоптерином внутриклеточного окислительно-восстановительного баланса [216] путём фосфорилирования белков семейства I κ B [54] активирует транслокацию с последующей транскрипцией фактора NF- κ B внутрь клеточного ядра [198]. В результате экспрессируются провоспалительные, протромботические и проатерогенные медиаторы [216].

Напротив, после введения синтетического ингибитора NF- κ B у мышей уменьшалась АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов [198]. В другом эксперименте при селективной блокаде транскрипционного белка I κ B- α активированные кровяные пластинки оказались неспособными к появлению псевдоподий, отвечающих за стабильность тромба при повреждении сосудистой стенки [54].

Таким образом, в доступной литературе есть детальные описания синтеза и продукции определённых «участников» гемостаза и иммунитета. Вместе с тем, остаётся неосвещённым возможное влияние нутритивной недостаточности, в том числе, не связанной с системным воспалением, на генерацию указанных белковых соединений.

1.3. Нарушения гемостаза и межклеточных взаимодействий при местной холодовой травме.

В патогенезе повреждения тканей при местной холодовой травме значительное место занимают нарушения в системах сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза с развитием гипоагрегации и гиперкоагуляции. Известно об укорочении у пострадавших времени свертывания крови, времени рекальцификации плазмы, АЧТВ, уменьшении МНО, повышении концентрации фибриногена и РФМК. С увеличением площади поражения гиперкоагуляция усиливается [18, 53, 109].

Возникающий микроциркуляторный стаз [224] приводит к явлению краевого стояния тромбоцитов, когда кровяные пластинки взаимодействуют друг с другом и со стенкой сосуда [13, 53]. Кроме того, уменьшение текучести крови способствует агглютинации её форменных элементов, они образуют скопления клеток величиной 10-120 мкм, что дополнительно снижает органный кровоток [53, 170, 220]. При холодовой травме процесс внутрисосудистого свертывания в зоне альтерации из системы микроциркуляции распространяется в дальнейшем на артериолы [53, 58].

В норме эндотелий активно участвует в поддержании равновесия свертывающей и противосвертывающей систем крови, продуцируя прокоагулянты, антикоагулянты, активаторы и ингибиторы фибриногена [57]. В то же время, компрометированная сосудистая стенка инициирует адгезию тромбоцитов, реакцию высвобождения из них эндогенных факторов агрегации, участвует в агрегации тромбоцитов, активирует контактную фазу процесса

свёртывания крови [74, 227]. По данным работ последних лет у больных с отморожениями III-IV степени в раннем реактивном периоде уменьшается количество тромбоцитов в крови, а затем увеличивается в позднем реактивном периоде. В начальные сроки возникает активация, разрушение кровяных пластинок и образование агрегатов [34]. Регистрируется обратная зависимость количества тромбоцитов от тяжести холодового поражения [129].

В месте повреждения тканей отмечается прилипание тромбоцитов к обнажённому субэндотелиальному матриксу. Данный феномен запускается повреждённым эндотелием, образованием в циркуляции тромбина и гемолизом эритроцитов [86, 207]. Кроме того, тромбин стимулирует генерацию эндотелием провоспалительного медиатора – фактора активации тромбоцитов, который индуцирует агрегацию, хемотаксис и адгезию как тромбоцитов, так и нейтрофилов и увеличивает продукцию IL-1 [15, 226], а вместе с последним повышает связывание лейкоцитов с эндотелием [217].

Под влиянием АДФ, фактора активации тромбоцитов, серотонина, катехоламинов, фибронектина, провоспалительных цитокинов образуются агрегаты активированных кровяных пластинок. Тромбоциты экспрессируют на своей поверхности рецепторы к фибриногену и соединяются между собой с помощью ионов кальция [55]. Известно, что у больных с глубокими отморожениями в раннем и позднем реактивных периодах уменьшается интенсивность, потенциал и скорость агрегации тромбоцитов. Количество тромбоцитов и их агрегационные функции находятся в обратной зависимости от массива поражённых холодом тканей [129]. Образование тромбоцитарных агрегатов признаётся одним из ведущих факторов для ферментативных реакций свёртывания крови [5, 6].

Повреждение эндотелия при местной холодовой травме и сам по себе холодовой фактор активируют коагуляционный гемостаз. На поверхности лейкоцитов, эндотелиоцитов и некоторых других клеток индуцируется экспрессия TF и запускается внешний путь свёртывания крови. Тканевой фактор является трансмембранным гликопротеидом, поверхностным клеточным рецептором и

кофактором плазменного фактора свёртывания VII. Показано, что провоспалительные цитокины в эксперименте способствуют экспрессии лейкоцитами периферической крови тканевого фактора [17]. Увеличение его содержания в крови больных приводит к развитию тромбозов, истощает свертывающую и фибринолитическую системы крови и неблагоприятно влияет на течение раневого процесса [85].

В раннем реактивном периоде местной холодовой травмы возрастает экспрессия лейкоцитами TF, по мере выздоровления снижается, но остаётся выше показателя здоровых [83]. Увеличение зоны поражения низкими температурами III-IV степени сопровождается усилением инкрипции тканевого фактора и эскалацией гиперкоагуляции [83].

Генерация TF неизбежно сопровождается повышением уровня атромбогенных факторов эндотелия и других клеток, в том числе и ингибитора тканевого пути свёртывания крови (TFPI) [86].

У пациентов с отморожениями в раннем и позднем реактивных периодах травмы отмечается снижение уровня АТ-III [129]. В литературе подчёркивается о важнейшей роли этого естественного антикоагулянта в тромборезистентности эндотелия [54]. Известно, что имеющийся у здоровых людей уровень в крови АТ-III в 3 раза превышает потенциальный уровень тромбина [133]. Вместе с тем, если содержание в плазме АТ-III становится меньше 60%, то увеличиваются риски развития тромбозов при травме и в послеоперационном периоде [39]. Регистрируется прямая зависимость между концентрацией в крови АТ-III и частотой и уровнем проведённых некрэктомий [109].

В дореактивном периоде отморожений у больных увеличивается способность к адгезии тромбоцитов к лимфоцитам и достигает наибольшей выраженности в раннем реактивном периоде [74, 120]. Повышение относительного числа и степени лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии пропорционально массиву поврежденных холодом тканей [129].

Известно, что под действием низких температур возникает спазм и парез сосудов [74, 120, 177], а также их изменения – повреждение эндотелия,

альтерация клеток, обнажение коллагена [227]. Большое количество эндотелиоцитов попадает в кровоток, возникает повышение уровня лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии [120]. Адгезия лейкоцитов и тромбоцитов к эндотелиальным клеткам вовлекается в патогенез ишемического повреждения сосудов [152, 176]. Тромбоциты повышают фагоцитоз лейкоцитов через высвобождаемые факторы, способствуют миграции лимфоцитов. Развивается иммунный ответ, главными участниками которого являются лимфоциты [14-16]. Возникает тромбоз сосудов и нарушение микроциркуляции, отграничение очага поражения и запуск саногенных механизмов. Установлено, что число десквамированных эпителиоцитов в раннем реактивном периоде холодовой болезни увеличивается до десяти раз, а процент лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии превышает уровень здоровых людей в 2,6 раза, степень – в 3,1 раза [129].

Несмотря на освещённость в литературе характерных нарушений гемостаза при местной холодовой травме, остаётся открытыми вопросы о каком-либо возможном влиянии нутритивной недостаточности на данные патогенетические механизмы.

1.4. Изменения в системе иммунитета при местной холодовой травме.

Местная холодовая травма сопровождается выраженными сдвигами системы иммунитета [18, 53, 109]. Изменяется структура лимфоцитов, увеличиваются участки гетерохроматина в ядре и его инвагинация. В тучных клетках повышается число гранул, как на периферии клетки, так и в центре. При морфометрическом анализе выявляется уменьшение площади и периметра лимфоцитов и тучных клеток. Нарушается целостность базальной мембраны и возрастает ее фрагментация. Увеличивается количество и толщина коллагеновых и эластических волокон [105].

Ещё с 80-х годов прошлого века постулируется взаимосвязь систем иммуногенеза и гемостаза [125]. При травме любого генеза для защиты организма

от повреждения, отграничения зоны альтерации, индуцирования саногенных и репаративных программ активируются системы гемостаза, иммунитета и резистентности, которые находятся в реципрокных отношениях. В их работе возникает дисбаланс в случае несоответствия тяжести травмы функциональным резервам организма. Медиаторы защитных систем могут становиться факторами агрессии [41, 101, 148].

Изменения в иммунной системе и инволюция тимуса являются составляющими стрессовой триады Н. Selye. При этом уменьшается активность лимфоцитов – натуральных киллеров (NK-лимфоцитов). Относительно легкая травма повышает, а тяжелая – понижает количество антителобразующих клеток на фоне первичного иммунного ответа [72, 123].

Кроме того, в ответ на повреждение активируется гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система, что сопровождается избыточной продукцией адренокортикотропного гормона и глюкокортикоидов. Одними из клеток-мишеней для гормонов становится субпопуляция кортизол-чувствительных лимфоцитов и тимоцитов, подвергающихся иммуносупрессии. В результате происходит поляризация отношения CD4+/CD8+ в сторону CD8+ и смещение Т-хелпер-1/Т-хелпер-2 (Th-1/Th-2) типов иммунного ответа [123].

При острой местной холодовой травме эти изменения происходят на фоне общего уменьшения числа лейкоцитов и лимфоцитов, особенно CD3+ и CD3+CD4+, незначительного снижения CD20+ [109]. Нейтрофильный лейкоцитоз с регенераторным сдвигом влево, наиболее выраженная лимфопения, тенденция к моноцитозу и эозинопении наблюдаются в 1-е и 2-е сутки травмы. На 5-9-й день количество лимфоцитов возрастает, а к концу месяца их число достигает нормальных значений [24]. Известно, что в ранние сроки местной холодовой травмы в 1,8 раза уменьшается число Т-хелперов [129], в позднем реактивном периоде возникает стойкое смещение CD4+/CD8+ в сторону CD8+ [109]. Наряду с этим, нарушается дифференцировка лимфоцитов и последующий синтез иммуноглобулинов. Возникающая дисиммуноглобулинемия характеризуется

уменьшением содержания в крови иммуноглобулина (Ig) G и IgA и увеличением IgM [109].

В позднем реактивном периоде местной холодовой травмы по-прежнему депримируется T-система иммунитета, умеренно угнетаются B-лимфоциты. Наблюдается рост содержания в крови IgA и IgM, незначительное повышение уровня IgG [21]. Степень иммунодефицита когерентна тяжести и объёму поражённых тканей. Известно, что увеличение количества CD3+ и B-лимфоцитов у пострадавших начинается с 18-21 дня при отморожениях III-IV степени, занимающих небольшой объём тканей [24].

Выраженные изменения наблюдаются при глубоких отморожениях со стороны неспецифической резистентности. Депримируется фагоцитарная активность лейкоцитов и их переваривающая способность. Обнаруженные сдвиги со стороны системы комплемента усугубляют критическое состояние специфической и неспецифической защиты при холодовой травме [108]. В раннем реактивном периоде у больных уменьшается активность лизоцима, при этом возрастает гемолитическая активность комплемента, тогда как содержание C1q и C3 компонентов комплемента не меняется. В позднем реактивном периоде активность системы комплемента возрастает. Одновременно уменьшается бактерицидная активность сыворотки и лизоцима. В содержании C1q и C3 компонентов комплемента различия не выявляются. При увеличении объёма поражения регистрируется более выраженные изменения неспецифической защиты организма [109].

Наряду с этим, Герасимовым А.А. опубликованы результаты исследования белков острой фазы у больных с местной холодовой травмой. Концентрация C-реактивного белка увеличивается в первые часы после травмы, а в последующем уменьшается. Отмечается рост содержания в крови орозомукоида, который ингибирует ответ лимфоцитов на некоторые виды митогенов, препятствует взаимодействию гепарина с антитромбином-III [21]. Умеренно повышается уровень церулоплазмينا, α -антитрипсина, тормозящего синтез IgM и IgG. В раннем реактивном периоде уменьшается содержание α -макроглобулина,

элиминирующего эндогенные эндопротеазы и являющегося медленным ингибитором тромбина [21].

Наряду приведенными данными, в литературе нет сведений о том, оказывает ли трофическая недостаточность какое-либо влияние на нарушения в системе иммунитета, индуцированное местной холодовой травмой.

1.5. Эффективность нутритивной поддержки.

В стационаре любого уровня на современном этапе развития медицины возможны следующие виды питания. Все варианты, кроме 1-го, - относятся к искусственному питанию или нутритивной поддержке:

1. Стандартная диета.
2. Парентеральное питание, когда питательные ингредиенты вводятся, минуя пищеварительный тракт, внутривенно.
3. Энтеральное питание – питательные вещества (смеси) вводятся через зонд или стому в желудок или тонкую кишку.
4. Смешанное питание – сочетание парентерального и энтерального питания.
5. Вспомогательное питание – дополнительный прием нутриентов через рот во время или между приёмами пищи [46, 84].

Стандартная диета в настоящее время регламентирована приказом МЗ РФ от 5 августа 2003 г. №330 «О мерах по совершенствованию лечебного питания в лечебно-профилактических учреждениях РФ». Новая номенклатура объединяет традиционные номерные столы (№1-15) в общевосстановительную диету (ОВД), щадящую (ЩД), высокобелковую (ВБД), низкобелковую (НБД) и низкокалорийную (НКД). Каждая диета, как следует из названия, ориентирована на определённое количество килокалорий и белка (Таблица 1) [90].

Система стандартных диет

Стандартная диета	Номерная диета	Калорийность, ккал	Содержание белка, %
ОВД	1,2,3,4,5,6,7,9,10,13,14,15	2170-2400	15
ЩД	1б,4б,4в,5п (I вариант)	2170-2400	15
ВБД	4э,4аг,5п (II вариант)	2080-2690	18-21
НБД	7а,7б	2200-2650	4-9
НКД	8, 8а, 8о,9а,10с	1340-1550	21

Международная группа по изучению сепсиса в 1992 году оценила влияние около 70 методов, применяемых в современной интенсивной терапии на уровень летальности при сепсисе, при условии дренирования очага инфекции. Методами лечения, статистически значимо снижающими уровень летальности, явились антибиотикотерапия, респираторная поддержка, инотропная поддержка и ранняя нутритивная поддержка [150]. Ранним энтеральным питанием, по определению ESPEN 1996 года, является начало питания в зонд или через рот в сроки 24-48 часов после окончания операции или поступления больного в ОРИТ. Раннее энтеральное питание против позднего в 1,5 раза уменьшает летальность в ОРИТ и в стационаре [141].

Согласно мета-анализам, у больных после хирургического вмешательства на желудочно-кишечном тракте значительное уменьшение послеоперационных инфекционных осложнений, сокращение риска несостоятельности, длительности пребывания в стационаре отмечалось при использовании раннего энтерального питания, а не при традиционном постепенном введении диеты [155, 156].

Целями нутритивной поддержки являются компенсация азотистых потерь, предотвращение или уменьшение редукции тощей массы тела, обеспечение энергозатрат и синтез белка. Задачи энтерального питания расширяются до предотвращения атрофии слизистой кишечника, увеличения мезентериального и печеночного кровотока, уменьшения интестинальной бактериологической транслокации. Известно, что тонкая кишка на 50%, а толстая кишка на 80% обеспечивает свою регенераторную трофику за счет внутрипросветного субстрата, а при его отсутствии в кишечнике нет оптимальной регенерации

эпителиоцитов слизистой оболочки и сохранности барьерной функции [40, 52, 135, 136, 163].

Диагностика недостаточности питания основана на анамнезе жизни: потери массы тела, изменении в доставке нутриентов, проблемы моторики желудочно-кишечного тракта, изменении его функциональной ёмкости, а также оценке достаточно большого количества антропометрических и лабораторных показателей. Десять тестов, отражающих соматический и висцеральный пул белка, жировые запасы и состояние иммунной системы человека включают измерение индекса массы тела Кетле, дефицита фактической массы тела от идеальной массы тела, окружности плеча, толщины кожно-жировой складки над трицепсом, окружности мышц плеча, креатинино-ростовой индекс, абсолютное число лимфоцитов, уровень общего белка, альбумина и трансферрина крови. Они сведены по бальной системе в таблицу В.М. Луфта и А.Л. Костюченко (Таблица 4) и классифицируют трофическую недостаточность по степени тяжести [84].

Предложено множество стратегий по скринингу пациентов с недостаточностью питания, однако, не ясно, помогает ли их существование прогнозированию летальности и осложнений [78]. Согласно методическим рекомендациям ESPEN [178] термин «нутриционный риск» используется для описания состояния неправильного питания высокой степени до ухудшения результатов. Серьезный нутриционный риск определяется как наличие по меньшей мере одного из следующих критериев: потеря веса $> 10\%$ за период 6 месяцев; индекс массы тела Кетле (отношение фактической массы тела к росту в квадрате) $< 18,5 \text{ кг/м}^2$; субъективная общая оценка (SGA) и скрининг нутритивного риска (NRS) ≥ 3 ; сывороточный альбумин $< 30 \text{ г/л}$ (без печеночной или почечной недостаточности).

SGA установлена Детски [228] и опирается на историю болезни пациента, с точки зрения потери веса, потребления пищи, желудочно-кишечных симптомов, функциональной способности и физикальных признаков неправильного питания (потеря подкожно-жировой клетчатки или мышечной массы, водянка, асцит). В NRS, разработанном Кондрапом в 2002 году, рассматривается потеря веса,

потребление пищи, индекс массы тела, тяжесть заболевания и возраст [162]. Критерии для оценки нутриционного риска пациентов, страдающих болезнями старческого возраста, составляются с расчетом сниженной функциональной активности. Величина индекса массы тела меньше 22 кг/м^2 и потеря веса больше 5 % за 3 месяца рассматриваются уже как критические показатели [164].

Подход к расчёту оптимального количества искусственного питания претерпел существенные изменения от увлечения суточным гиперкалоражем до ограничения поступления источников энергии на уровне в 30-35, максимум в 45 ккал/кг/сутки [75, 111, 165, 174].

Энтеральные смеси типа «Иммун» содержат глутамин в дозе до 20 г/л. Соотношение ω -6 (линолевая, арахидоновая, докозатетраеновая) и ω -3 (α -линолевая, эйкозопентаеновая, докозапентаеновая, докозагексаеновая) полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) поддерживается на уровне не больше 5:1. Учитывается противовоспалительное и дезагрегационное свойство α -линолевой кислоты и напротив, тот факт, что линолевая кислота является предшественником провоспалительных простагландинов и прокоагулянтов тромбосана A_1 и тромбосана A_2 [46].

Следует отметить, что метаболические нарушения у больных и пострадавших возникают не только в случае депривации питания, когда пациент по различным причинам не может, не хочет или не должен [67] получать стандартную диету. За последнее десятилетие подтверждено, что дисбаланс обмена веществ сопровождает любое критическое состояние, отвечая на стресс, медиатор, является инклюзивной составляющей системного воспалительного ответа. При этом доказано исследованиями высокого уровня, что ранняя нутритивная поддержка, представленная различными сочетаниями методик парентерального и энтерального питания, является на настоящем этапе развития медицины наиболее эффективным методом коррекции возникающих расстройств белкового и энергетического обмена [52, 59-61, 82].

Согласно протоколу интенсивной терапии местной холодовой травмы в Забайкальском региональном центре термической травмы больным с глубокими

отморожениями в случае диагностированной трофической недостаточности в периоперационном периоде назначается стандартная высокобелковая диета. При сепсисе таким пациентам проводится нутритивная поддержка с высоким содержанием глутамина и ω -3 ПНЖК. Между тем, в литературе не освещены данные: оказывает ли подобное «иммунное» питание какую-либо влияние на патогенез местной холодовой травмы при отсутствии системного воспаления.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нерандомизированное проспективное контролируемое исследование выполнено у 82 пациентов мужского пола с местной холодовой травмой, поступивших в ГУЗ «Городская клиническая больница №1» г. Чита в 2010-2014 гг.

Клинико-функциональные наблюдения проведены на базе ожогового отделения ГУЗ «Городская клиническая больница №1» г. Чита. Параклинические исследования выполнены в «Лаборатории экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии», «Лаборатории физиологии и патологии иммунитета и гемостаза» НИИ медицинской экологии ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» и клинико-диагностической лаборатории ГУЗ ГКБ №1.

Объектом исследования являлись: люди, их кровь, плазма крови, сыворотка крови и моча.

Работа признана допустимой и рекомендованной к выполнению локальным этическим комитетом при ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» от 26.11.2010 г.

2.1. Характеристика групп клинического наблюдения.

Возраст пострадавших составил от 16 до 60 лет (Таблица 2).

Таблица 2

Распределение больных по возрасту

Возраст, лет	Количество больных	%
16-25	8	9,8
26-32	16	19,5
33-39	18	30,0
40-46	16	19,5
47-53	11	13,4
54-60	13	15,9

Критерии включения в исследование:

- отморожение III-IV степени конечностей;
- госпитализация в дореактивный, ранний и поздний реактивные периоды;
- форма отморожения: от действия сухого мороза, контактные отморожения, возникающие при субкритической температуре тканей, отморожения по типу траншейной и иммерсионной стопы.

Диагноз устанавливался на основании жалоб, анамнеза и локального статуса. Верификация глубокого отморожения не исключала наличия участков поверхностного поражения I-II степени у одного и того же пациента. Всем больным в состав терапии с момента поступления согласно протоколу ведения входили низкомолекулярные антикоагулянты прямого действия в профилактической дозе.

Сроки поступления в стационар после получения травмы (Таблица 3) различались ввиду того, что некоторые пострадавшие не обращались за медицинской помощью, другие – переведены из районных больниц Забайкальского края (Таблица 4).

Таблица 3

Характеристика периодов местной холодовой травмы

Период	Характеристика
Дореактивный	до начала согревания и восстановления кровообращения
Ранний реактивный	с момента согревания пораженного органа и восстановления кровообращения до 48 часов
Поздний реактивный	с 3-х до 10-15-х суток
Гранулирования и эпителизации	с 10-15-х суток до полного восстановления кожного покрова
Отдалённых последствий	несколько месяцев или лет после восстановления кожного покрова

Таблица 4

Периоды местной холодовой травмы на момент госпитализации

Период	Количество больных	%
Дореактивный	15	18,3
Ранний реактивный	48	58,5
Поздний реактивный	19	23,2

Наиболее частая форма местной холодовой травмы приходилась на отморожение от действия сухого мороза (Рисунок 1).

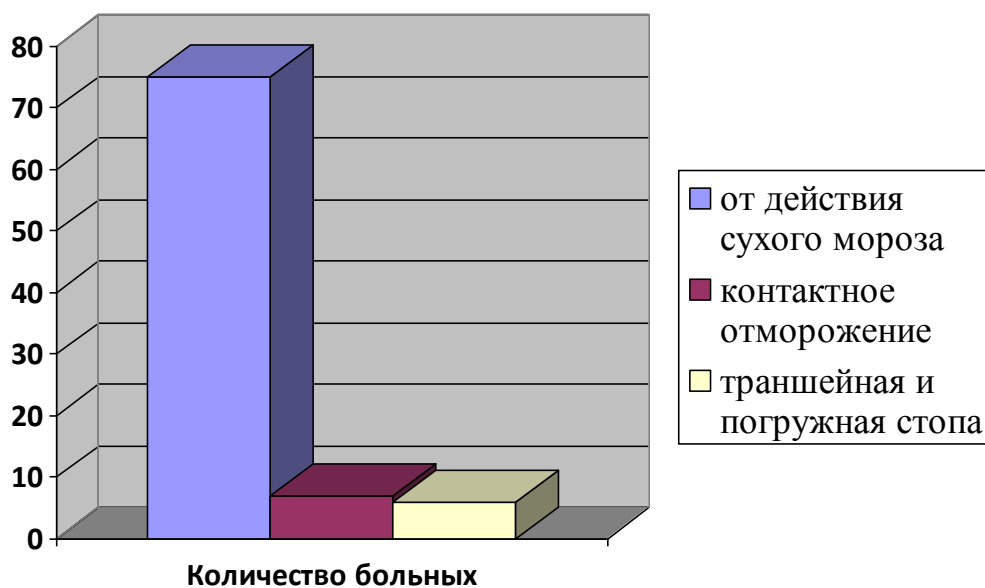


Рисунок 1. Распределение пациентов по форме отморожений

Критерии исключения из исследования: возраст моложе 16 лет и старше 60 лет, наличие злокачественных опухолей, аутоиммунные заболевания, вирусные инфекции, клинически значимый атеросклероз сосудов сердца, мозга и конечностей, туберкулёз, системные воспалительные заболевания, сепсис, включение глюкокортикоидов в состав терапии, почечная дисфункция, хронический вид местной холодовой травмы, печёночная дисфункция, поступление больше чем через 5 суток с момента травмы.

Возрастные ограничения связаны с тем, что у детей до 16 лет антропометрические и лабораторные параметры трофического статуса (Таблица 5) в силу анатомических и физиологических особенностей отличаются от таковых у взрослых. У пожилых пациентов снижение функциональной активности органов и систем уменьшает соматический и висцеральный пулы белка, и для корректной оценки недостаточности питания требуются поправочные коэффициенты [162].

Злокачественные опухоли, аутоиммунные заболевания, вирусные инфекции, клинически значимый атеросклероз сосудов сердца, мозга и конечностей, туберкулёз, системные воспалительные заболевания, – все эти патологические состояния по данным литературы ассоциируются с повышением уровня неоптерина в плазме [7, 32, 76, 77, 128, 197, 204, 206, 215, 230, 232], измерение которого вошло в методы исследования. Кроме того, на содержание неоптерина в крови оказывает роль включение глюкокортикоидов в состав терапии [159].

Острый или хронический виды почечной дисфункция не позволяют корректно рассматривать мочу в качестве объекта исследования. Хронический вид местной холодовой травмы включающий в себя холодовую аллергию и нейроваскулит, в отличие от сверхострого вида (оледенения), острого (отморожения) и подострого (траншейной и погружной стопы) не вызывает травматической деструкции тканей конечностей [109]. Печёночная недостаточность различной этиологии сопровождается нарушениями регуляции синтеза белков, в том числе входящих в параметры исследования, и сама по себе является причиной трофического дефицита [46].

Сепсис состоит в критериях исключения из исследования, потому что решения в 1992 г. согласительной конференцией ACCP/SCCM (American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine Consensus Conference), Калужской согласительной конференцией РАСХИ (Российской ассоциации специалистов по хирургической инфекции) в 2004 г. [1, 97, 106] дефинируют данный термин, как синдром системной воспалительной реакции при наличии подтверждённого очага инфекции, к которому, безусловно, относится рана в результате отморожения III-IV степени. В свою очередь метаболическая дисфункция является инклюзивной составляющей системного воспаления [59] и априори исключена при построении гипотезы нашего исследования.

Испытуемые разделены на две группы клинического наблюдения по состоянию исходного трофического статуса. Оценка питания проводилась при поступлении в ожоговое отделение из суммы баллов по шкале (Таблица 5) Лифта В.М. и Костюченко А.Л. [84]. В первую группу вошли 29 больных с эйтрофией, набравшие в сумме 28-30 баллов. Вторую группу составили 53 пострадавших с недостаточностью питания, результат которых не превышал 27 баллов.

Показатели, характеризующие степень выраженности недостаточности питания

Показатели *	Стандарты	Недостаточность питания		
		лёгкая	средняя	тяжёлая
Баллы	3	2	1	0
ИМТ, кг/м ²	25,0-19,0	18,9-17,0	16,9-15,0	≤ 14,9
Отклонение ФМТ от ИдМТ, %	0-5,0	5,1-10,0	10,1-19,9	≥ 20,0
ОП, см				
мужчины	29,0-26,0	25,9-23,0	22,9-20,0	≤ 19,9
женщины	28,0-25,0	24,9-22,5	22,4-19,5	≤ 19,4
ТКЖСТ, мм				
мужчины	10,5-9,5	9,4-8,4	8,3-7,4	≤ 7,3
женщины	14,4-13,0	12,9-11,6	11,5-10,1	≤ 10,0
ОМП, см				
мужчины	25,7-23,0	22,9-20,5	20,4-18,0	≤ 17,9
женщины	23,5-21,0	20,9-18,8	18,7-16,5	≤ 16,4
Общий белок, г/л	65,0	64,9-55,0	54,9-45,0	≤ 44,0
Альбумин, г/л	35,0	34,9-30,0	29,9-25,0	≤ 24,0
Трансферрин, г/л	2,0	1,9-1,8	1,7-1,6	≤ 1,5
КРИ, %	90-100	80-90	70-80	≤ 70
Абсолютное число лимфоцитов	1800	1700-1500	1400-900	≤ 800
Сумма баллов	30	28-20	19-11	8

* – пояснение и расчёт показателей приведены в разделе 2.3.1 на стр. № 43-44

2.2. Характеристика группы контроля.

В контрольную группу вошли 40 добровольцев мужского пола. Возраст испытуемых составил от 21 до 59 лет (Таблица 6).

Таблица 6

Распределение контрольной группы по возрасту

Возраст	Количество добровольцев	%
16-25	3	7,5
26-32	8	20,0
33-39	11	27,5
40-46	5	12,5
47-53	9	22,5
54-60	5	12,5

В группу контроля не попали лица с острыми и хроническими заболеваниями, требующими стационарного или амбулаторного лечения и (или) обследования, приёма лекарственных препаратов. Исключались из исследования люди при наличии жалоб на недомогание, гипорексию, плохой сон, гипертермию и т.п. Мониторировался общий и биохимический анализ крови. Курение табака и употребление алкоголя кроме дня донации и накануне исследования, не являлись критериями исключения.

2.4. Характеристика клинического питания групп клинического наблюдения.

Согласно протоколу ведения больных с местной холодовой травмой пострадавшие получают стандартную общевосстановительную диету. ОВД содержит 2100 ккал и 14 г азота, что соответствует в среднем 28-35 ккал/кг/сутки и 0,19-0,23 г азота/кг/сутки [90]. Нутритивная поддержка таким пациентам не предусмотрена.

Ситуация менялась при верификации трофической недостаточности у больных с глубоким отморожением в периоперационном периоде. Тактика, принятая в ожоговом центре г. Чита, сводится в назначении таким пациентам стандартной высокобелковой диеты. ВБД содержит 2700 ккал и 19 г азота, что соответствует в среднем 36-45 ккал/кг/сутки и 0,25-0,32 г азота/кг/сутки [90]. Искусственное питание в таких случаях не проводится.

Исключением из правил является депривация питания, когда пострадавший по различным причинам не может или не хочет принимать стандартную диету и, тем самым, возникают показания к нутритивной поддержке. Кроме того, сепсис служит императивным показанием к искусственному питанию и включению в его состав глутамина и противовоспалительных жирных кислот, но данные пациенты не вошли в группы клинического наблюдения.

Вторая группа испытуемых с недостаточностью питания подразделена на 2 подгруппы рандомизированным методом последовательных номеров. 1-ю подгруппу составили 26 пациентов с недостаточностью питания, которым назначена ВБД. Во 2-ю подгруппу вошли 27 пострадавших с трофической недостаточностью, которым на фоне приёма ОВД назначены вспомогательный и частичный парентеральный виды нутритивной поддержки, обогащённой глутамином и ω -3 полиненасыщенными жирными кислотами.

В качестве источника 10 г глутамина и 9,2 г полиненасыщенных жирных кислот в соотношении ω -6/ ω -3, равным 2,8/1, применялась энтеральная смесь «Нутрикомп Иммун» производства В. Braun (Германия) в количестве 500 мл/сутки вспомогательным методом искусственного питания – sip feeding (маленькими

глотками между приёмами пищи). Данная смесь содержит 1330 ккал/л и 10,7 г азота/л, следовательно, общий калораж питания достигал у пациентов 2-й подгруппы 2765 ккал/сутки, а уровень поступающего с белком азота – 19,5 г/сутки, что сопоставимо с метаболической ценностью ВБД.

Дополнительное количество глутамина больные 2-й подгруппы получали через частичное парентеральное питание препаратом «Дипептивен» производства Fresenius Kabi (Германия), содержащего 13,5 г глутамина в 100 мл 20% раствора. Внутривенная инфузия нутрицевтика проводилась со скоростью не больше 0,5 мл/кг/час, а его суточный объём исходил из рассчитанной общей дозы энтерального и парентерального глутамина в 0,4 г/кг/сутки.

2.3. Методы исследования.

2.3.1. Методы исследования трофического статуса.

Исследовались следующие антропометрические показатели: идеальная масса тела (ИдМТ), индекс массы тела Кетле (ИМТ), дефицит или избыток массы тела, окружность плеча на уровне средней трети (ОП), толщина кожно-жировой складки над трицепсом (ТКЖСТ), окружность мышц плеча (ОМП). Из лабораторных методов определялся креатинино-ростовой индекс (КРИ).

ИдМТ рассчитывалась по формуле Лоренца для мужчин – формуле 1:

$$\text{ИдМТ для мужчин (кг)} = \text{рост (см)} - 100 - (\text{рост (см)} - 152) \times 0,2 \quad (1)$$

У больных с ампутированными конечностями для определения ИдМТ использовалась уравнение с пересчётом на коэффициент К (Таблица 7) – формула 2 [84]:

$$\text{ИдМТ}_{\text{амп}} = \text{ИдМТ} - \text{ИдМТ} \times \text{К} (\%) / 100\% \quad (2)$$

Таблица 7

Идеальная масса тела – поправка на ампутированную конечность

Ампутированный сегмент конечности	%
Кисть	1
Предплечье	2
Плечо	3,5
Целиком верхняя конечность	6,5
Стопа	1,7
Голень	5,2
Бедро	11,6
Целиком нижняя конечность	18,6

ИМТ определялся по уравнению Кетле – формуле 3:

$$\text{ИМТ (кг/м}^2\text{)} = \text{Вес (кг)} / \text{Рост}^2 \text{ (м}^2\text{)} \quad (3)$$

Дефицит массы тела рассчитывался по отклонению фактической массы тела (ФМТ) от ИдМТ согласно формуле 4 [60, 61, 67, 84]:

$$\text{Дефицит (\%)} = (1 - \text{ФМТ} / \text{ИдМТ}) \times 100\% \quad (4)$$

Измерение ОП проводилось в сантиметрах на уровне средней трети плеча посередине расстояния между акромиальным отростком лопатки и локтевым отростком локтевой кости нерабочей, ненапряжённой руки.

ТКЖСТ измерялась с помощью калипера (адипомера). Складка кожи и подкожно-жировой клетчатки захватывалась двумя пальцами, большим и указательным, на уровне средней точки между кончиком акромиального отростка лопатки и локтевого отростка локтевой кости. Складка оттягивалась примерно на 1 см, накладывался калипер, дистальнее большого и указательного пальцев, посередине между верхушкой и основанием складки. Результат оценивался в миллиметрах.

ОМП рассчитывалась по формуле 5 [84]:

$$\text{ОМП (см)} = \text{ОП (см)} - 0,314 \times \text{ТКЖСТ (мм)} \quad (5)$$

Вычисление КРИ проводилось на процентном отношении экскреции креатинина суточной мочи (КСМ) к идеальной, т.е. расчётной (у мужчин 23 мг/кг ИдМТ) экскреции креатинина (РЭК) [84] по формуле 6:

$$\text{КРИ (\%)} = \text{КСМ (мг/сут)} \times 100\% / \text{РЭК (мг/сут)} \quad (6)$$

Креатинин мочи измерялся в микромолях, перерасчёт в миллиграммы проводился согласно формуле 7 [84]:

$$\text{КСМ (мг/сут)} = \text{креатинин мочи (мкмоль/л)} \times \text{объём суточной мочи (л)} \times 0,11 \quad (7)$$

2.3.2. Методы исследования показателей гемостаза.

Для определения количества кровяных пластинок использовался гематологический анализатор Pentra XL 80 (France). Забор крови испытуемого проводился из вены предплечья или локтевого сгиба без применения турникетной компрессии объёмом 2,7 мл в пробирку Monovette производства Sarstedt AG (Germany), содержащую динатриевую соль ЭДТА. Эксфузия крови планировалась с 08-00 до 09-00 (до приёма пищи).

Содержание антитромбина-III выявлялось кинетическим колориметрическим методом аппаратом Helena AC-4 (UK). Забор крови испытуемого проводился из вены предплечья или локтевого сгиба без применения турникетной компрессии объёмом 5,0 мл в пробирку Monovette производства Sarstedt AG (Germany), содержащую 3,2% раствор цитрата натрия. Эксфузия крови планировалась с 08-00 до 09-00 (до приёма пищи).

Методом ИФА оценивался показатель ингибитора внешнего пути свёртывания крови с технической поддержкой American Diagnostica Inc., (USA). Забор крови испытуемого проводился из вены предплечья или локтевого сгиба без применения турникетной компрессии объёмом 5-7 мл в стеклянную пробирку. Эксфузия крови планировалась с 08-00 до 09-00 (до приёма пищи). Пробирка с кровью центрифугировалась, клеточные элементы седиментировались на её дне. Сыворотка крови в количестве 2-х мл переливалась в пробирку Eppendorf и замораживалась при температуре -25°C . Срок хранения при температуре -25°C варьировал от 1-го до 6 месяцев.

2.3.3. Методы исследования медиаторов иммунного ответа.

Забор крови испытуемого проводился из вены предплечья или локтевого сгиба без применения турникетной компрессии объёмом 5-7 мл в стеклянную пробирку. Эксфузия крови планировалась с 08-00 до 09-00 (до приёма пищи). Пробирка с кровью центрифугировалась, клеточные элементы седиментировались на её дне. Сыворотка крови в количестве 2-х мл переливалась в пробирку Еррendorf и замораживалась при температуре -25°C . Срок хранения при температуре -25°C варьировал от 1-го до 6 месяцев.

Для определения содержания неоптерина в человеческой плазме использовался иммуноферментный набор «Neopterin ELISA» (кат. №. RE59321, версия 2010.06) согласно инструкции производителя (IBL, Germany). Уровень фактора некроза опухолей альфа измерялся ИФА тестом «Human TNF- α total» (кат. № BMS2034 – 96, версия 11.08.09-21), интерлейкина-10 – иммуноферментным набором «Human IL-10» (кат. № BMS215/2TEN, версия 07.10.10-22). Производство и техническая поддержка в двух последних случаях представлялись компанией «Bender MedSystems» (Austria).

2.3.4. Метод исследования лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии.

Относительное число лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии в процентах и степень ЛТА, или лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс (ЛТИ) рассчитывались по оригинальной методике профессора Ю.А. Витковского [16].

Забор крови испытуемого проводился из вены предплечья или локтевого сгиба без применения турникетной компрессии объёмом 5,0 мл в пробирку Monovette производства Sarstedt AG (Germany), содержащую 3,2% раствор цитрата натрия. Эксфузия крови планировалась с 08-00 до 09-00 (до приёма пищи).

Для получения общего пула лимфоцитов кровь наслаивалась на градиент урографин-фикол с плотностью 1,077 и центрифугировалась при 1500 об/мин в течение 40 минут. Седиментированное интерфазное кольцо, содержащее лимфоциты и кровяные пластинки снималось пастеровской пипеткой (дозатором). Полученная клеточная взвесь промывалась фосфатно-солевым буфером с рН, равным 7,4 и центрифугировалась при 1500 об/мин в течение 4 минут. Надосадочная жидкость сливалась. Осадок ресуспендировался, и проводилась микроскопия в камере Горяева.

Подсчитывалось количество лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов на 100 клеток (в процентах), что является относительным числом ЛТА. При этом за коагрегат принимался лимфоцит, адгезировавший на своей поверхности 1 или больше тромбоцитов. Лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс (или степень ЛТА) оценивался, как среднее арифметическое количество тромбоцитов, присоединившихся к одному лимфоциту.

2.3.5. Методы исследования субпопуляционной структуры лимфоцитов.

Забор крови испытуемого проводился из вены предплечья или локтевого сгиба без применения турникетной компрессии объёмом 2,7 мл в пробирку Monovette производства Sarstedt AG (Germany), содержащую динатриевую соль ЭДТА. Эксфузия крови планировалась с 08-00 до 09-00 (до приёма пищи).

Использовали стандартный методом прямого пяти параметрического иммунофлюоресцентного окрашивания цельной крови с использованием коммерческого лизирующего/фиксирующего раствора Optilyse C (Beckman Coulter) и панели моноклональных антител tetraCHROME™ и IOTest (Beckman Coulter): 1-ая панель - CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 и HLA-DR-PC7; 2-ая панель - CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5 и CD16-PC7. Контрольные пробы инкубировали с иммуноглобулинами мечеными флуорохромами (FITC, RD1, ECD, PC5, PC7) соответствующего изотипа – мышинные IgG1, IgG2a IOTest (Beckman Coulter). Цитофлюорометрию осуществляли на проточном цитофлюориметре "Cytomics FC-500" (Beckman Coulter, USA), при этом регистрировали суммарно не менее 10.000 событий. Данные анализировали с помощью программы CXP Cytometer (Beckman Coulter).

2.3.6. Методы описательной и сравнительной статистики.

Полученные данные результатов исследования обработаны с помощью программ Biostat 2009 Professional 5.8.4 и Microsoft Excel 2007.

Описание количественных признаков представлено на диаграммах доверительным интервалом, в тексте и таблицах – медианой (Me) и интерквартильным размахом [91].

При сравнении по количественному признаку двух независимых групп использовался критерий Манна-Уитни с указанием точного значения статистической значимости (p). Сравнение по количественному признаку двух зависимых групп (динамических различий показателей внутри одной группы) применялся тест Уилкоксона с указанием точного значения статистической значимости [91].

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Исследование показателей гемостаза у пациентов с местной холодовой травмой III-IV степени в зависимости от нутритивного статуса.

Оценка количества кровяных пластинок при травме любой этиологии важна, потому что генерация тромбоцитами некоторых цитокинов и хемокинов [208], а также большого кластера факторов роста оказывает благоприятное воздействие на репаративные процессы в ранах [132]. Известно, что сосудистый эндотелиальный фактор роста локализуется в цитоплазме кровяных пластинок, остальные тромбоцитарные факторы роста синтезируются в α -гранулах [54].

Кроме того, эскалация экспрессии лейкоцитами тканевого фактора в раннем реактивном периоде местной холодовой травмы и незначительное её снижение в последующие периоды [83], а также прямая зависимость инкрипции TF от увеличения площади глубокого отморожения [83] предполагает адекватное содержание в плазме естественных антикоагулянтов.

Во 2-й группе ($n = 36$) больных с исходной нутритивной недостаточностью 32 пациента и в 1-й группе ($n = 22$) с эйтрофией 20 человек госпитализированы в первые двое суток после получения травмы. В таких случаях подсчёт тромбоцитов крови проводился дважды: в раннем реактивном периоде и, повторно – в позднем реактивном периоде местной холодовой травмы.

Установлено уменьшение (Таблица 9, Рисунок 2) количества тромбоцитов крови в РРП относительно контроля у больных с отморожениями конечностей III-IV степени в обеих группах ($p < 0,001$; $p = 0,015$), независимо от характера нутритивного статуса. Наряду с этим, у больных в группе с недостаточностью питания кровяных пластинок в 1,3 раза меньше ($p = 0,042$), чем у больных с эйтрофией.

Количество тромбоцитов крови ($\times 10^9/\text{л}$) в разные периоды местной холодовой травмы. Ме (25-й процентиль; 75-й процентиль)

Группа	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$, ПРП	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$, РРП	
Контроль, n = 22	301 (255; 356)		
1-я группа, n = 22	445 (278; 600) p = 0,024	n = 20	214 (196; 325) p = 0,015
2-я группа, n = 36	471 (287; 648) p = 0,003 p ₁ = 0,842	n = 32	187 (117; 251) p < 0,001 p ₁ = 0,042

p – статистическая значимость различий с контролем;

p₁ – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группами больных

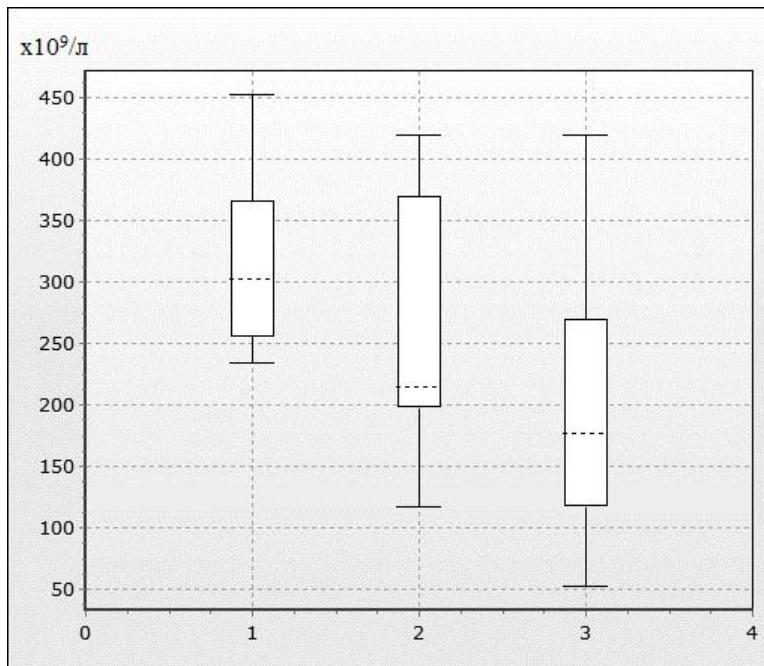


Рисунок 2. Количество тромбоцитов крови ($\times 10^9/\text{л}$) в раннем реактивном периоде местной холодовой травмы. Доверительные интервалы.

Примечание: 1 – группа контроля (n = 22); 2 – группа с эйтрофией (n = 20); 3 – группа с недостаточностью питания (n = 32)

В ПРП на фоне увеличения (Таблица 9, Рисунок 3) количества тромбоцитов крови в обеих группах в сравнении со здоровыми людьми ($p = 0,003$; $p = 0,024$) разницы между группами наблюдения не выявлено ($p = 0,842$).

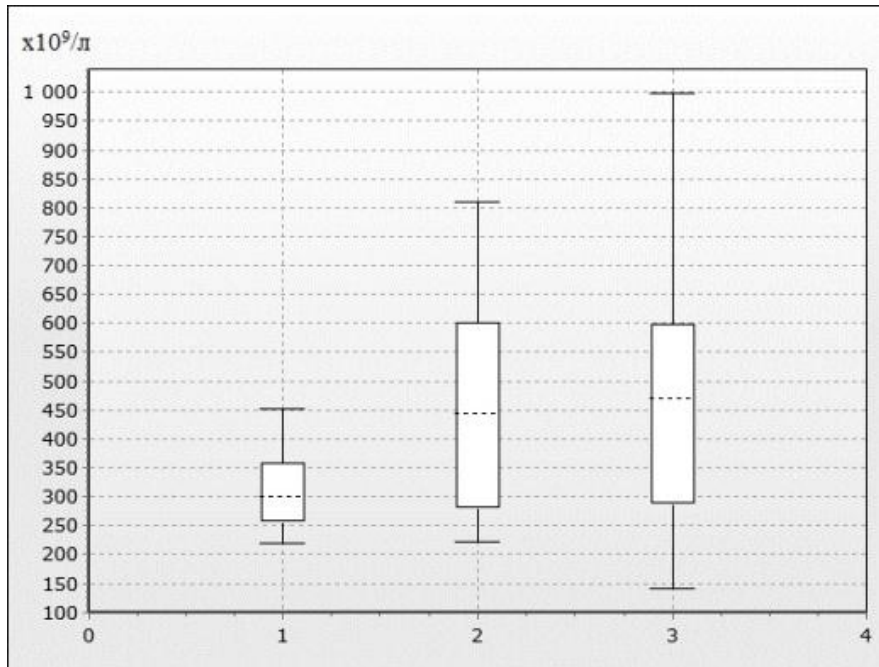


Рисунок 3. Количество тромбоцитов крови ($\times 10^9/\text{л}$) в позднем реактивном периоде местной холодовой травмы. Доверительные интервалы.

Примечание: 1 – группа контроля ($n = 22$); 2 – группа с эйтрофией ($n = 22$); 3 – группа с недостаточностью питания ($n = 36$)

Увеличение уровня TFPI в сыворотке крови обнаружено ($p = 0,026$) только в группе больных с нормальным нутритивным статусом (Таблица 10, Рисунок 4). Установлено, что при отсутствии различия ($p = 0,334$) по отношению к контролю в группе с недостаточностью питания содержания ингибитора тканевого пути свёртывания крови в 1,5 раза меньше ($p = 0,022$), чем у пациентов 1-й группы (Таблица 10, Рисунок 4).

Таблица 10

Содержание ингибитора внешнего пути свёртывания крови (нг/мл) в сыворотке крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Ме (25-й процентиль; 75-й процентиль)

Группа	TFPI, нг/мл
Контроль, n = 22	3,2 (2,7; 3,6)
1-я группа, n = 22	3,8 (3,6; 4,1) p = 0,026
2-я группа, n = 36	2,9 (1,7; 3,8) p = 0,334 p ₁ = 0,022

p – статистическая значимость различий с контролем;

p₁ – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группами больных

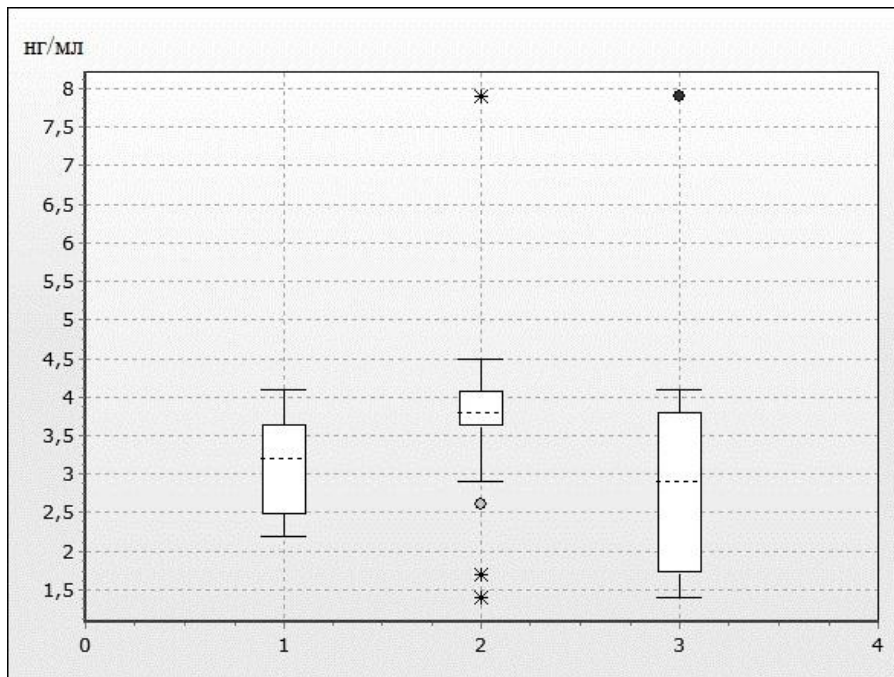


Рисунок 4. Содержание ингибитора внешнего пути свёртывания крови (нг/мл) в сыворотке крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Доверительные интервалы.

Примечание: 1 – группа контроля (n = 22); 2 – группа с эйтрофией (n = 22); 3 – группа с недостаточностью питания (n = 36)

В группе больных с нутритивной недостаточностью выявлено уменьшение в плазме крови уровня АТ-III: медиана 72,0 % (интерквартильный размах от 55,0 до 97,1 %) против ($p = 0,005$) медианы 101,7 % (интерквартильного интервала от 87,9 до 111,7 %) в группе контроля на 40 % и против ($p = 0,047$) медианы 90,9 % (интерквартильного отрезка от 71,1 до 101,1 %) в группе пострадавших с эйтрофией на 20%. В свою очередь, содержание АТ-III в крови больных с нормальным статусом на 17% меньше ($p = 0,038$), чем у здоровых людей (Рисунок 5).

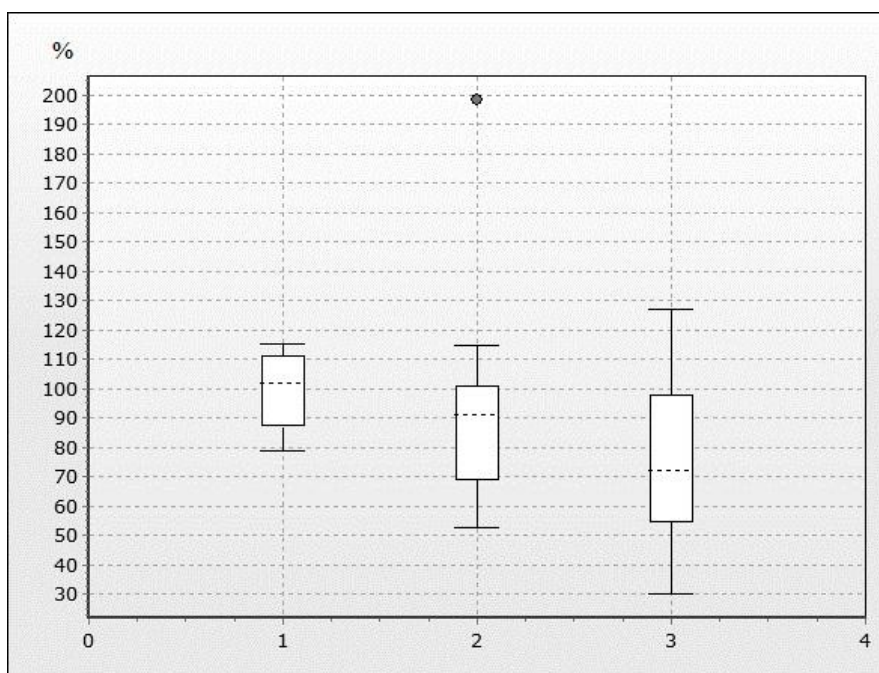


Рисунок 5. Содержание антитромбина-III (%) в плазме крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Доверительные интервалы.

Примечание: 1 – группа контроля ($n = 22$); 2 – группа с эйтрофией ($n = 22$); 3 – группа с недостаточностью питания ($n = 36$)

Полученные результаты у пострадавших с мальнутрицией констатируют снижение содержания в крови двух из основных естественных антикоагулянтов, тогда как известно, что уменьшение антитромбина-III до 60% и меньше увеличивает риски развития тромбозов при травме и в послеоперационном периоде [39], и у больных с местной холодовой травмой регистрируется прямая зависимость между концентрацией в крови АТ-III и частотой и уровнем

проведённых некрэктомий [109]. Уменьшение уровня TFPI, в свою очередь, на фоне и без того нарастающей экспрессии TF [83] у пациентов с глубокими отморожениями может привести к неконтролируемой активации свёртывания крови [54].

Кроме того, зарегистрированное снижение количества тромбоцитов крови в РРП у больных с исходной недостаточностью питания, возможно, ухудшает репаративные процессы в повреждённых тканях в сравнении с пострадавшими при нормальном трофическом статусе.

3.2. Исследование медиаторов иммунного ответа в сыворотке крови пациентов с местной холодовой травмой III-IV степени при эйтрофии и исходной нутритивной недостаточности.

Среди стационарных больных хирургического профиля нутритивная недостаточность имеет широкое распространение и значимо увеличивает количество послеоперационных осложнений и летальность. Доказана неблагоприятная роль недостаточности питания в течении раневого процесса [61, 66, 130, 181]. В качестве маркера нутритивной недостаточности и критерия мальнутриции, ассоциированной с системным воспалением в литературе указывается на неоптерин [196, 214]. При этом, метаболическое истощение сопровождается высоким содержанием в крови цитокина-«кахектина» – фактора некроза опухолей альфа [38].

Неоптерин признаётся интегральным показателем Т-хелпер 1-го типа иммунного ответа [103], к цитокинам которого относится и TNF- α [41]. В свою очередь Th-2 цитокин – IL-10 опосредовано через IFN- γ подавляют эффект данного птеридина [103].

Не установлено различия в уровне TNF- α (Таблица 11, Рисунок 6) в сыворотке крови у больных исследованных групп с отморожением конечностей III-IV степени как относительно контроля ($p = 0,056$ и $p = 0,939$), так и между собой ($p = 0,6$).

Таблица 11

Содержание цитокинов TNF- α (пкг/мл) и IL-10 (пкг/мл) в сыворотке крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Ме (25-й процентиль; 75-й процентиль)

Группа	TNF- α (пкг/мл)	IL-10 (пкг/мл)
Контроль, n = 14	0 (0; 5,13)	0,52 (0,10; 1,99)
1-ая группа, n = 18	0 (0; 4,37) p = 0,939	1,33 (0,65; 13,22) p = 0,049
2-ая группа, n = 25	0 (0; 5,32) p = 0,056 p ₁ = 0,6	2,26 (1,10; 7,34) p = 0,001 p ₁ = 0,799

p – статистическая значимость различий с контролем;

p₁ – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группами больных

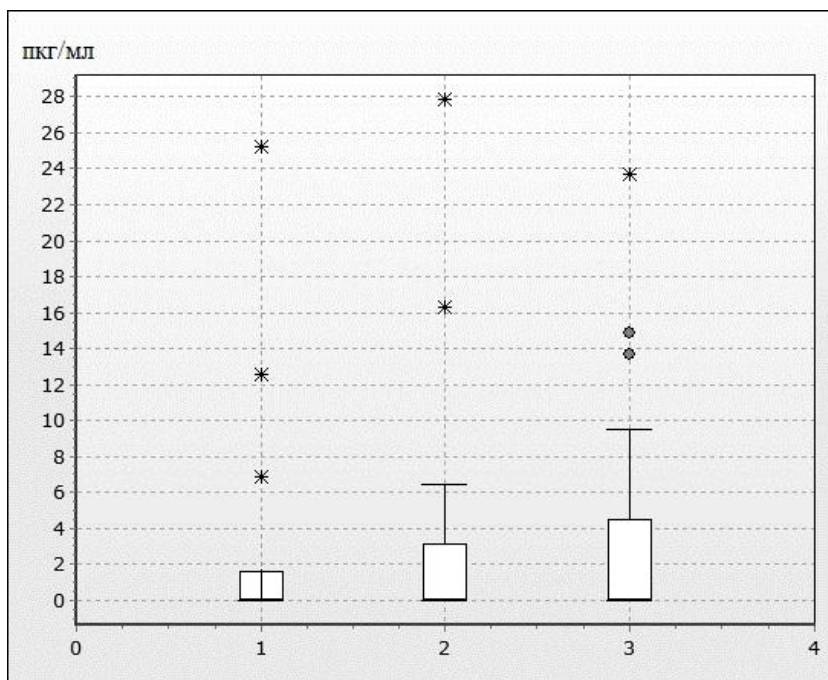


Рисунок 6. Содержание TNF- α (пкг/мл) в сыворотке крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Доверительные интервалы.

Примечание: 1 – группа контроля (n = 14); 2 – группа с эйтрофией (n = 18); 3 – группа с недостаточностью питания (n = 25)

В то же время, выявлено увеличение ($p = 0,001$ и $p = 0,049$) содержания в сыворотке крови IL-10 в каждой группе исследуемых больных в сравнении с контролем. Между группами клинического наблюдения различия ($p = 0,799$) в данном показателе не найдено (Таблица 11, Рисунок 7).

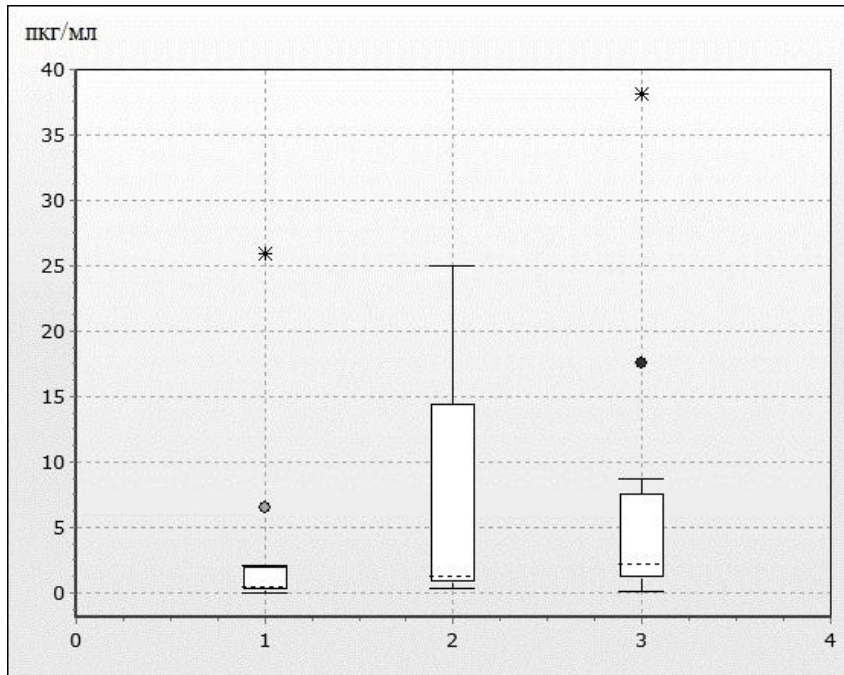


Рисунок 7. Содержание IL-10 (пкг/мл) в сыворотке крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Доверительные интервалы.

Примечание: 1 – группа контроля ($n = 14$); 2 – группа с атрофией ($n = 18$); 3 – группа с недостаточностью питания ($n = 25$)

Полученные результаты возможно объяснить преобладанием синдрома компенсаторной противовоспалительной реакции у пациентов с местной холодовой травмой, тем более, что системное воспаление исключалось из исследования.

Установлено увеличение в 4,3 раза ($p = 0,008$) содержания в сыворотке крови неоптерина у пациентов с недостаточностью питания по отношению к контролю. У пострадавших с атрофией различия с контролем по уровню неоптерина в сыворотке крови не найдено ($p = 0,79$), у них же содержание

неоптерина в 2,5 раза меньше ($p = 0,015$), чем у больных с нутритивной недостаточностью (Таблица 12, Рисунок 8).

Таблица 12

Содержание неоптерина (нмоль/л) в сыворотке крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Ме (25-й процентиль; 75-й процентиль)

Группа	Неоптерин (нмоль/л)
Контроль, n = 14	2,91 (0,84; 6,33)
1-ая группа, n = 18	1,66 (0,05; 10,57) $p = 0,79$
2-ая группа, n = 25	10,11 (5,91; 14,79) $p = 0,008$ $p_1 = 0,015$

p – статистическая значимость различий с контролем;

p_1 – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группами больных

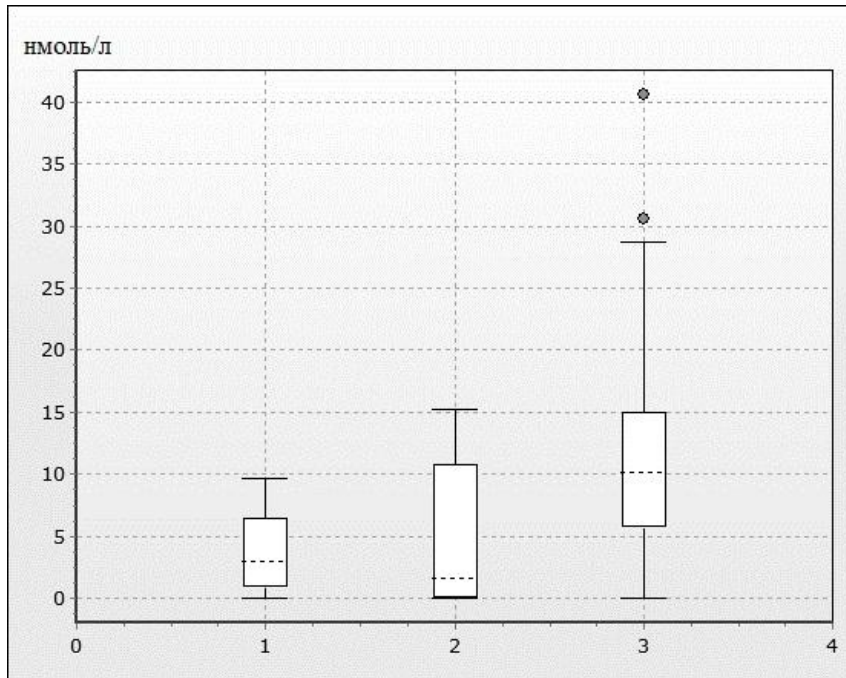


Рисунок 8. Содержание неоптерина (нмоль/л) в сыворотке крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Доверительные интервалы.

Примечание: 1 – группа контроля (n = 14); 2 – группа с эйтрофией (n = 18); 3 – группа с недостаточностью питания (n = 25)

Недостаточное влияние Th-1 цитокинов на продукцию неоптерина в группе пострадавших с нормальным нутритивным статусом связано, вероятно, с преобладающей генерацией противовоспалительных медиаторов у больных с местной холодовой травмой без проявлений системного воспалительного ответа.

Таким образом, в крови пострадавших с глубоким отморожением конечностей уровень TNF- α и повышенная концентрация IL-10 не зависят от нутритивного статуса. При этом, содержание неоптерина увеличивается только у больных с исходной трофической недостаточностью, что позволяет рассматривать данный птерин, как критерий мальнутриции.

3.3. Исследование лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных с глубокими отморожениями конечностей в зависимости от нутритивного статуса.

Реализация механизмов защиты при повреждении сосудистой стенки холодом сопровождается повышением адгезивной активности кровяных пластинок к лимфоцитам [94]. Тромбоциты интенсифицируют фагоцитоз через высвобождаемые факторы и за счёт своей ретракции способствуют миграции лимфоцитов через повреждённую сосудистую стенку вглубь ткани [14-16]. Кровяные пластинки при этом секретируют множество ростовых факторов, стимулирующих репарацию поражённого участка [14-16].

Установлено увеличение ($p < 0,001$) относительного числа ЛТА – медианы 24 (интерквартильного отрезка от 19 до 28) % против контроля в группе больных с эйтрофией, у них же относительное число ЛТА в 1,5 раза больше ($p = 0,009$), чем у пациентов с нутритивной недостаточностью – медианы 16 (интерквартильного размаха от 13 до 19) %, данный показатель у которых не имеет различий ($p = 0,085$) с контролем: медианой 14 (интерквартильным интервалом от 13 до 15) % (Рисунок 9).

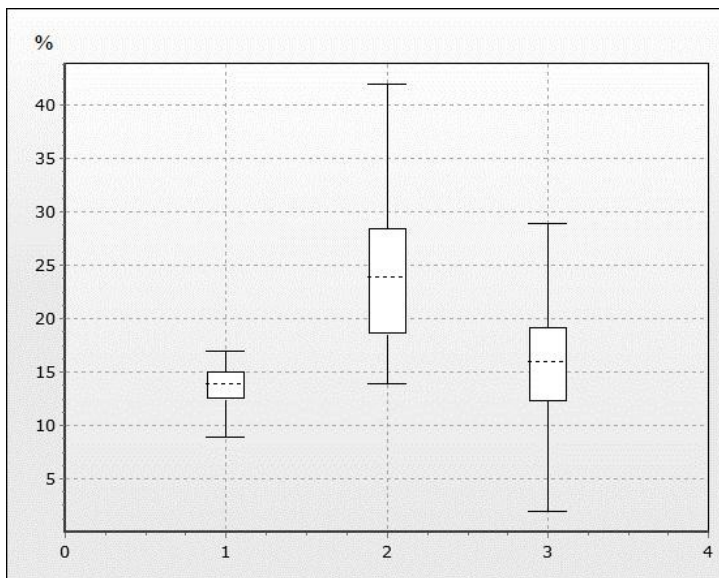


Рисунок 9. Относительное число ЛТА (%) в крови у пациентов с отморожениями конечностей III-IV степени. Доверительные интервалы.

Примечание: 1 – группа контроля (n = 19); 2 – группа с эйтрофией (n = 18); 3 – группа с недостаточностью питания (n = 20)

Выявлено увеличение ($p < 0,001$; $p = 0,006$) степени ЛТА в сравнении с контролем – медианы 3,1 (интерквартильного интервала от 2,7 до 3,8) в обеих группах клинического наблюдения (Рисунок 10). Однако, у пострадавших с нормальным трофическим статусом ЛТИ в 1,4 раза больше ($p = 0,019$), чем у больных с мальнутрицией: медиана 7,1 (интерквартильный размах от 4,8 до 8,8) против медианы 4,9 (интерквартильного отрезка от 3,7 до 6,2) (Рисунок 10).

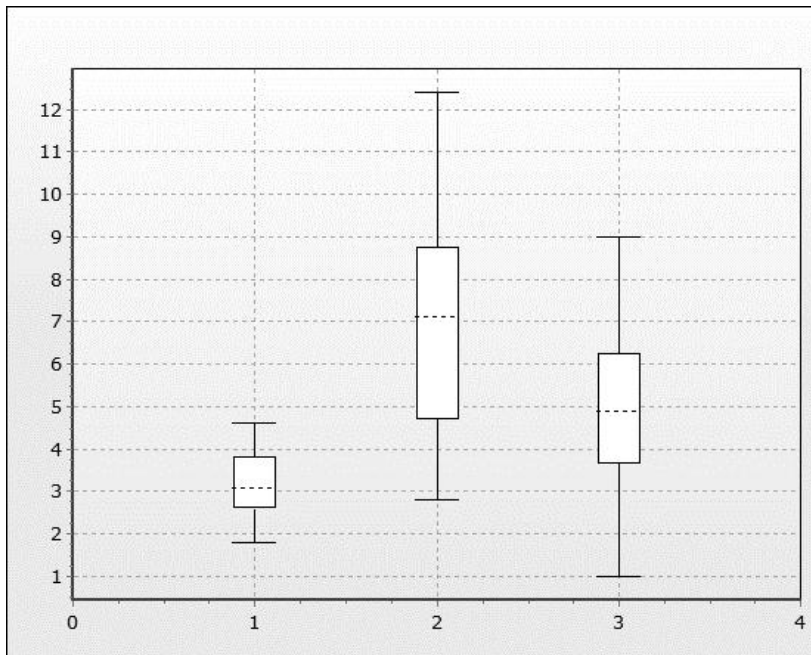


Рисунок 10. ЛТИ у пациентов с отморожениями конечностей III-IV степени. Доверительные интервалы.

Примечание: 1 – группа контроля (n = 19); 2 – группа с эйтрофией (n = 18); 3 – группа с недостаточностью питания (n = 20)

Таким образом, у больных с местной холодовой травмой лишь при отсутствии трофической недостаточности возрастает относительное количество лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов. Степень ЛТА остаётся увеличенной в сравнении со здоровыми людьми как у пациентов с эйтрофией, так и при недостаточности питания, но при нормальном трофическом статусе ЛТИ больше.

3.4. Исследование субпопуляционной структуры лимфоцитов у пациентов с эйтрофией и с исходной нутритивной недостаточностью, госпитализированных с отморожениями конечностей III-IV степени.

Проточная цитометрия презентует количественный состав клеток, несущих маркеры в пределах популяции лимфоцитов, в том числе с экспрессией HLA-DR+. Данный метод характеризует как состояние адаптивного иммунитета [54], так и висцеральный пул белка в качестве оценки трофического статуса [84].

Не выявлено различий со здоровыми людьми в абсолютном количестве Т-лимфоцитов, CD3+CD4+ и CD3+CD8+ в крови у больных с местной холодовой травмой в обеих группах клинического наблюдения (Таблица 13). В то же время, в крови у пострадавших с недостаточностью питания абсолютное число клеток CD3+ на 27% ($p = 0,037$) и CD3+CD8+ на 44% ($p = 0,025$) больше, чем у пациентов с эйтрофией. Также в группе с нутритивной недостаточностью установлено уменьшение на 40% ($p = 0,022$) отношения CD4+/CD8+ в сравнении с контролем (Таблица 13).

Таблица 13

Абсолютное количество CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+ (в 1 мл) и отношение CD4+/CD8+ в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Me (25-й перцентиль; 75-й перцентиль)

Показатель	Контроль, n = 16	1-я группа, n = 20	2-я группа, n = 32
CD3+	1365 (1184; 1781)	1287 (1130; 1543) p = 0,505	1713 (1354; 1954) p = 0,408 p ₁ = 0,037
CD3+CD4+	919 (755; 1196)	809 (668; 980) p = 0,198	1001 (728; 1185) p = 0,878 p ₁ = 0,163
CD3+CD8+	434 (362; 539)	438 (348; 535) p = 0,965	675 (478; 762) p = 0,118 p ₁ = 0,025
CD4+/CD8+	2,13 (2,00; 2,21)	1,90 (1,52; 2,15) p = 0,198	1,52 (1,22; 1,76) p = 0,022 p ₁ = 0,147

p – статистическая значимость различий с контролем;

p₁ – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группами больных

Вместе с тем, выявлена эскалация (Таблица 14) абсолютного числа активированных CD3+ и CD3+CD8+ в крови у пострадавших независимо от нутритивного статуса. Однако, количество клеток CD3+CD4+HLA-DR+ увеличилось (p < 0,001) только в группе с недостаточностью питания (Таблица 14). У этих же пациентов абсолютное количество активированных как Т-лимфоцитов (p < 0,001), так и клеток CD3+CD4+ (p < 0,001) и CD3+CD8+ (p = 0,002) больше, чем у пациентов с эйтрофией (Таблица 14).

Абсолютное количество CD3+HLA-DR+, CD3+CD4+HLA-DR+ и CD3+CD8+HLA-DR+ (в 1 мл) в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Ме (25-й перцентиль; 75-й перцентиль)

Группа	CD3+HLA-DR+	CD3+CD4+HLA-DR+	CD3+CD8+HLA-DR+
Контроль, n = 16	84 (57; 163)	26 (21; 42)	28 (21; 49)
1-я группа, n = 20	187 (149; 242) p = 0,025	48 (42; 64) p = 0,168	87 (74; 126) p < 0,001
2-я группа, n = 32	383 (284; 445) p < 0,001 p ₁ < 0,001	121 (86; 156) p < 0,001 p ₁ < 0,001	186 (143; 287) p < 0,001 p ₁ = 0,002

p – статистическая значимость различий с контролем;

p₁ – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группами больных

Не найдено различий (p = 0,958) в количестве клеток CD19+ в крови между группами клинического наблюдения. Кроме того, число В-лимфоцитов в крови у пациентов с недостаточностью питания (p = 0,391) и у пострадавших с нормальным трофическим статусом (p = 0,099) не отличалось от контроля (Рисунок 11).

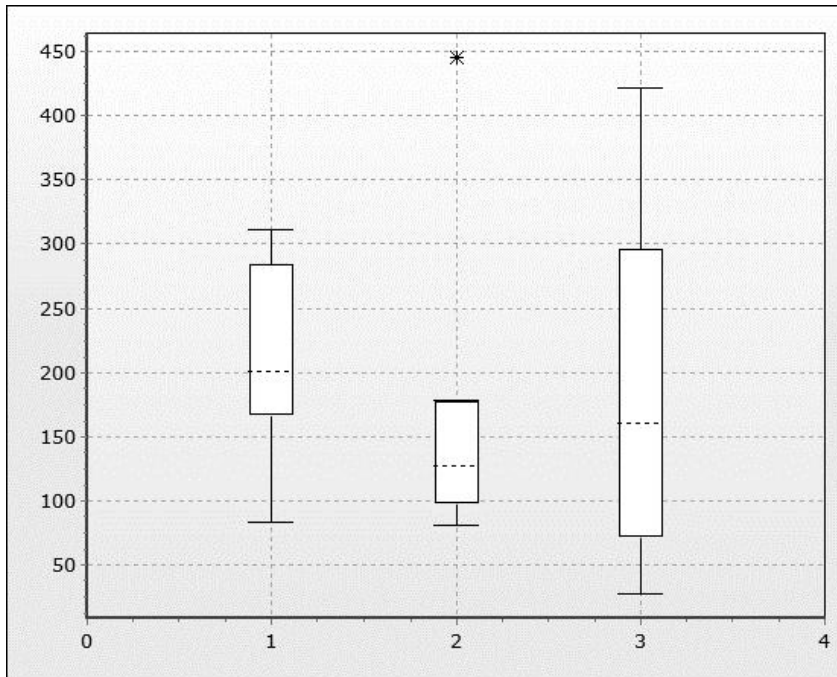


Рисунок 11. Количество В-лимфоцитов (в 1 мл) в крови пациентов с отморожениями конечностей III-IV степени. Доверительные интервалы.

Примечание: 1 – группа контроля (n = 16); 2 – группа с атрофией (n = 20); 3 – группа с недостаточностью питания (n = 32)

Не выявлено различий с контролем и между группами клинического наблюдения по количеству натуральных киллеров и натуральных киллеров Т-лимфоцитов (Таблица 15).

Абсолютное количество натуральных киллеров и натуральных киллеров Т-лимфоцитов (в 1 мл) в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени. Ме (25-й процентиль; 75-й процентиль)

Группа	CD3-CD16+CD56+	CD3+CD16+CD56+
Контроль, n = 16	149 (79; 250)	33 (23; 48)
1-я группа, n = 20	162 (69; 210) p = 0,689	20 (14; 28) p = 0.091
2-я группа, n = 32	123 (96; 163) p = 0,976 p ₁ = 0,976	34 (20; 56) p = 0,951 p ₁ = 0,096

p – статистическая значимость различий с контролем;

p₁ – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группами больных

Таким образом, в крови у пациентов с отморожением конечностей III-IV степени при отсутствии системного воспалительного ответа независимо от нутритивного статуса не изменяется абсолютное количество Т- и В-лимфоцитов, естественных киллеров, а также клеток CD3+CD4+, CD3+CD8+ и CD3+, хотя последние две субпопуляции преобладают у пострадавших при исходной недостаточности питания относительно больных с эйтрофией, а коэффициент CD4+/CD8+ в этой же группе меньше контроля. Несмотря на диагностированную при поступлении трофическую недостаточность у пациентов с местной холодовой травмой, у них не отмечено уменьшения висцерального пула белка.

В то же время, у испытуемых как с нормальным питанием, так и при наличии его дефицита возрастает абсолютное количество активированных Т-лимфоцитов и клеток CD3+CD8+HLA-DR+ в крови, но число активированных Т-хелперов – только у больных с трофической недостаточностью. В целом активированное звено субпопуляционной структуры лимфоцитов в крови у пациентов с местной холодовой травмой и исходной мальнутрицией имеет большее количество клеток, чем у пострадавших с нормальным нутритивным статусом.

Усиление экспрессии HLA-DR⁺ у больных с глубокими отморожениями может происходить на фоне повреждения сосудистой стенки, активации кровяных пластинок и эскалации лимфоцитарно-тромбоцитарных взаимодействий [54]. Вероятно, у пациентов с недостаточностью питания данные процессы индуцируются иными факторами.

3.5. Исследование количества тромбоцитов, содержания антитромбина-III в крови больных с местной холодовой травмой конечностей III-IV степени при нутритивной недостаточности после различных видов клинического питания.

Все пациенты с исходной недостаточностью питания в течение 3-х недель получали клиническое питание с одинаковым суточным содержанием азота и калорий, но не равнозначным по уровню глутамина и полиненасыщенных жирных кислот, а также соотношению ω -6/ ω -3 ПНЖК.

Установлено уменьшение количества тромбоцитов ($p < 0,02$) и увеличение содержания АТ-III ($p < 0,02$) в крови больных с местной холодовой травмой и нутритивной недостаточностью, получающих ВБД ($n = 18$), после 3-х-недельного курса питания (Таблица 16).

Таблица 16

Количество тромбоцитов ($\times 10^9/\text{л}$) и уровень АТ-III (%) в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени и нутритивной недостаточностью, получающих ВБД ($n = 18$), до и после 3-х-недельного курса питания. Ме (25-й перцентиль; 75-й перцентиль)

Показатель	Исходно	После 3-х недель питания
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	482 (279; 629)	299 (190; 408) $p < 0,02$
АТ-III, %	69,5 (44,9; 87,8)	88,0 (81,3; 99,5) $p < 0,02$

p – статистическая значимость динамических различий

В то же время, в крови пациентов с отморожениями конечностей III-IV степени и недостаточностью питания, которым назначалась нутритивная поддержка с высоким содержанием глутамина и ω -3 ПНЖК ($n = 19$) в течение 3-х недель повышался уровень АТ-III ($p < 0,02$), но количество тромбоцитов ($p > 0,05$) не изменялось (Таблица 17).

Таблица 17

Количество тромбоцитов ($\times 10^9/\text{л}$) и уровень АТ-III (%) в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени и трофической недостаточностью, получающих нутритивную поддержку с высоким содержанием глутамина и ω -3 ПНЖК ($n = 19$), до и после 3-х-недельного курса питания. Ме (25-й перцентиль; 75-й перцентиль)

Показатель	Исходно	После 3-х недель питания
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	412 (288; 579)	283 (213; 358) $p > 0,05$
АТ-III, %	79,5 (59,6; 99,6)	93,4 (87,1; 103,4) $p < 0,02$

p – статистическая значимость динамических различий

Выявлено, что после 3-х-недельного курса питания в крови больных с местной холодовой травмой и мальнутрицией количество тромбоцитов и содержание АТ-III не имело отличий в зависимости от вида клинического питания, а также в сравнении со здоровыми людьми (Таблица 18).

Таблица 18

Количество тромбоцитов ($\times 10^9/\text{л}$) и содержание АТ-III (%) в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени и нутритивной недостаточностью после 3-х-недельного курса питания. Ме (25-й перцентиль; 75-й перцентиль)

Подгруппа	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	АТ-III, %
Контроль, $n = 22$	301 (255; 356)	101,7 (87,9; 111,7)
Подгруппа 2.1, $n = 18$	299 (190; 408) $p = 0,684$ $p_1 = 0,831$	88,0 (81,3; 99,5) $p = 0,134$ $p_1 = 0,176$
Подгруппа 2.2, $n = 19$	283 (213; 358) $p = 0,686$	93,4 (87,1; 103,4) $p = 0,859$

p – статистическая значимость различий с контролем;

p_1 – статистическая значимость различий между 2.1. и 2.2. подгруппами больных

Таким образом, в крови больных с глубокими отморожениями конечностей и, диагностированной при поступлении трофической недостаточностью, через 3 недели количество тромбоцитов и уровень АТ-III достигают контрольного значения. Вид клинического питания не оказывает значимого влияния на динамику данных показателей.

3.6. Исследование субпопуляционной структуры лимфоцитов в крови пациентов с отморожениями конечностей III-IV степени при трофической недостаточности после различных видов клинического питания.

Установлено, что при назначении в течение 3-х недель ВБД ($n = 16$) пациентам с местной холодовой травмой и исходной мальнутрицией не изменялось ($p > 0,05$) абсолютное количество субпопуляций лимфоцитов крови (Таблица 19).

Таблица 19

Субпопуляционная структура лимфоцитов в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени и нутритивной недостаточностью, получающих ВБД (n = 16). Ме (25-й процентиль; 75-й процентиль)

Показатель, в 1 мл	Исходно	После 3-х недель
CD3+	1394 (1191; 1861)	1438 (1372; 1550) p > 0,05
CD3+CD4+	814 (682; 1041)	765 (644; 842) p > 0,05
CD3+CD8+	572 (433; 741)	601 (491; 654) p > 0,05
CD4+/CD8+	1,42 (1,22; 1,81)	1,32 (1,11; 1,49) p > 0,05
CD3+HLA-DR+	357 (281; 422)	326 (305; 371) p > 0,05
CD3+CD4+HLA-DR+	133 (97; 163)	82 (62; 109) p > 0,05
CD3+CD8+HLA-DR+	207 (143; 255)	153 (138; 187) p > 0,05
CD19+	158 (55; 246)	165 (98; 186) p > 0,05
CD3-CD16+CD56+	111 (102; 130)	117 (66; 234) p > 0,05
CD3+CD16+CD56+	33 (18; 50)	33 (22; 49) p > 0,05

p – статистическая значимость динамических различий

После 3-х-недельного искусственного питания с высоким содержанием глутамина и ω -3 ПНЖК в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени и нутритивной недостаточностью выявлено уменьшение (p < 0,024)

абсолютного числа CD3+HLA-DR+ в 3,7 раза, CD3+CD4+HLA-DR+ в 3,3 раза и CD3+CD8+HLA-DR+ в 4,3 раза (Таблица 20).

Таблица 20

Субпопуляционная структура лимфоцитов в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени и трофической недостаточностью, получающих нутритивную поддержку с высоким содержанием глутамина и ω -3 ПНЖК (n = 16). Ме (25-й перцентиль; 75-й перцентиль)

Показатель, в 1 мл	Исходно	После 3-х недель
CD3+	1146 (1002; 1399)	1245 (896; 1496) p > 0,05
CD3+CD4+	674 (457; 812)	751 (504; 1057) p > 0,05
CD3+CD8+	432 (369; 523)	430 (320; 591) p > 0,05
CD4+/CD8+	1,52 (1,33; 1,76)	1,76 (1,44; 2,58) p > 0,05
CD3+HLA-DR+	405 (335; 452)	112 (81; 138) p < 0,024
CD3+CD4+HLA-DR+	107 (82; 152)	34 (26; 41) p < 0,024
CD3+CD8+HLA-DR+	170 (145; 277)	47 (29; 63) p < 0,024
CD19+	174 (77; 232)	228 (183; 245) p > 0,05
CD3-CD16+CD56+	170 (91; 254)	203 (82; 287) p > 0,05
CD3+CD16+CD56+	34 (23; 90)	28 (21; 34) p > 0,05

p – статистическая значимость динамических различий

Установлено, что в подгруппе 2.2, где пострадавшим назначалась нутритивная поддержка, обогащённая глутамином и ω -3 ПНЖК, абсолютные числа клеток крови CD3+HLA-DR+ в 3,1 раз, CD3+CD4+HLA-DR+ в 2,5 раза и CD3+CD8+HLA-DR+ в 3,7 раза меньше ($p < 0,05$), а абсолютное количество В-лимфоцитов крови в 1,5 раза больше ($p < 0,05$), чем у пациентов подгруппы 2.1, получавших ВБД (Таблица 21). Остальные субпопуляции лимфоцитов крови между подгруппами наблюдения по числу клеток не отличались ($p > 0,05$), равно как и вся исследуемая структура лимфоцитов ($p > 0,05$) в обеих подгруппах относительно контроля, кроме пострадавших с ВБД, у которых активированные Т-лимфоциты оставались выше показателей здоровых людей (Таблица 21).

Таблица 21

Субпопуляционная структура лимфоцитов в крови больных с отморожениями конечностей III-IV степени и нутритивной недостаточностью после 3-х-недельного курса питания. Ме (25-й процентиль; 75-й процентиль)

Показатель, в 1 мл	Контроль, n = 16	Подгруппа 2.1., n = 16	Подгруппа 2.2., n = 16
CD3+	1365 (1184; 1781)	1438 (1372; 1550) $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	1245 (896; 1496) $p > 0,05$
CD3+CD4+	929 (755; 1196)	765 (644; 842) $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	661 (504; 1057) $p > 0,05$
CD3+CD8+	434 (362; 539)	601 (491; 654) $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	400 (320; 591) $p > 0,05$
CD4+/CD8+	2,13 (2,00; 2,21)	1,32 (1,11; 1,49) $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	1,44 (1,76; 2,58) $p > 0,05$

CD3+HLA-DR+	84 (57; 163)	326 (305; 371) p < 0,05 p ₁ < 0,05	112 (81; 138) p > 0,05
CD3+CD4+HLA-DR+	26 (21; 42)	82 (62; 109) p < 0,05 p ₁ < 0,05	34 (26; 41) p > 0,05
CD3+CD8+HLA-DR+	28 (21; 49)	153 (138; 187) p < 0,05 p ₁ < 0,05	47 (29; 63) p > 0,05
CD19+	201 (173; 281)	165 (98; 186) p > 0,05 p ₁ < 0,05	228 (183; 245) p > 0,05
CD3-CD16+CD56+	149 (79; 250)	117 (66; 234) p > 0,05 p ₁ > 0,05	203 (82; 287) p > 0,05
CD3+CD16+CD56+	33 (23; 48)	33 (22; 49) p > 0,05 p ₁ > 0,05	28 (21; 34) p > 0,05

p – статистическая значимость различий с контролем;

p₁ – статистическая значимость различий между 2.1. и 2.2. подгруппами больных

Таким образом, при назначении в течение 3-х недель клинического питания с высоким содержанием глутамина и ω-3 ПНЖК в крови пациентов с местной холодовой травмой и исходной трофической недостаточностью уменьшаются абсолютные количества активированных клеток субпопуляционной структуры лимфоцитов как в динамике, так и в сравнении с пострадавшими, получающими в то же самое время высокобелковую диету. Кроме того, включение в 3-х-недельный рацион питания данных нутрицевтиков у больных с отморожениями конечностей III-IV степени и мальнутрицией на момент госпитализации сопровождается увеличением абсолютного числа В-лимфоцитов по отношению к пострадавшим после курса стандартной ВБД.

Уменьшение активированных CD3+CD4+ [15] и CD3+CD8+ [182, 183] может свидетельствовать об усилении локомоции в ткани лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов, что приводит к улучшению репаративных процессов в ране [14-16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обсуждение результатов исследования. Известно, что нутритивная недостаточность и при отсутствии системной воспалительной реакции проявляется большим или меньшим снижением уровня альбумина, преальбумина, трансферрина, абсолютного количества лимфоцитов [52, 60, 61, 67, 84, 111, 116, 181, 199]. Результаты нашего исследования у больных с мальнутрицией без генерализованного воспаления по сравнению со здоровыми людьми и пострадавшими с эйтрофией констатируют уменьшенное содержание в крови других белковых соединений, изменения в уровне которых характерно для течения местной холодовой травмы: антитромбина-III и ингибитора внешнего пути свёртывания крови.

В нашем случае не представляется возможным объяснить депримирующее действие TFPI расщеплением его α -изоформы тромбином, являющимся сериновой протеиназой, через интегральные протеазные рецепторы PAR-1 базальной мембраны эндотелиоцитов. Это реакция происходит на фоне генерации провоспалительных цитокинов и простагландинов, при этом TFPI утрачивает способность становится агонистом эндотелиальных протеогликанов [56].

Возможно, нутритивная недостаточность влияет на синтез в печени антитромбина-III, по своей природе белка α_2 -глобулина [54]. Известно, что у пациентов с отморожениями в раннем и позднем реактивных периодах травмы отмечается уменьшение уровня АТ-III [129], и при мальнутриции, по нашим результатам, это происходит более выражено.

Несмотря на то, что в норме содержание в плазме крови АТ-III превышает необходимую его концентрацию для инактивации тромбина в 3 раза [133], снижение этого антикоагулянта до 60% и меньше увеличивает риски развития тромбозов при травме и в послеоперационном периоде [39]. А у больных с местной холодовой травмой регистрируется прямая зависимость между концентрацией в плазме АТ-III и частотой и уровнем проведённых некрэктоми [109].

Возможно предположить, что установленное нами уменьшение концентрации обоих естественных антикоагулянтов в крови пациентов с нутритивной недостаточностью аддитивно снижает ингибирование внешнего пути свёртывания крови, вследствие, вероятно, меньшей возможности АТ-III индуцировать диссоциацию комплекса TF:VIIa посредством гепарансульфатных гликозаминогликановых рецепторов эндотелия [2, 3] и меньшей способности АТ-III через протеогликановые рецепторы генерировать простаглицлин [54], ингибирующий, в свою очередь, экспрессию PAR-1 на поверхности эндотелия [223].

В то же время, зарегистрированное нами увеличение концентрации интерлейкина-10 в крови как пострадавших с мальнутрицией, так и у больных с нормальным трофическим статусом, возможно, оказывает нивелирующее влияние на вышеуказанные процессы, так как IL-10 уменьшает синтез TF [187].

Известно, что глутамин является наиболее распространенной свободной аминокислотой в человеческом организме и находится в большем количестве и в большей концентрации, чем любая другая аминокислота. Хотя данная полуэссенциальная аминокислота может производиться любыми клетками из α -кетоглутерата и глутамата через глутамат аминотрансферазу и глутаминсинтетазу, основной объём её производства приходится на скелетную мускулатуру [200]. У больных с недостаточностью питания депо глутамина, незаменимого метаболита в условиях стресса [40, 130, 135, 180, 200], быстро истощается, ввиду исходно сниженного объёма мышечной массы. В результате происходит срыв реакций адаптации. Развивается дистресс, следствием которого является неадекватный синтез ряда биологически активных веществ, ферментов, гормонов, а также недостаточная пролиферация лимфоцитов и тромбоцитов [26, 40, 130, 135]. Проявляются данные процессы выраженными изменениями состояния систем сосудисто-тромбоцитарного и плазменно-коагуляционного гемостаза, отражающими системный дистресс [40, 46].

В нашем исследовании установлено, что в раннем реактивном периоде местной холодовой травмы у пациентов с недостаточностью питания количество тромбоцитов меньше, чем у пострадавших с нормальным трофическим статусом.

Возможно, что на число кровяных пластинок влияет недостаточный синтез тромбopoэтина, регулирующего в фазу эндомитотического развития мегакариоцитопоэза, и представляющего из себя комплекс полипептидов, синтез которых происходит в печени, селезёнке, лёгких, почках и костном мозге [54]. Кроме того, не исключается ослабление синтеза в печени и почках, а также в самих мегакариоцитах рецептора клеток мегакариоцитарного ряда – с-Mpl, лигандом которого после конъюгации с полиэтиленгликолем выступает тромбopoэтин, после чего активируется рост незрелых мегакариоцитов, экспрессия в них гликопротеинов, развитие эндоплазматических структур, происходит компартиментализация клеток, и синтезируется большое количество белков в тромбоцитарных α -гранулах [54]. В то же время, непосредственно белки α -гранул: фактор роста и фактор роста фибробластов инициируют экспрессию гена мРНК тромбopoэтина, что позволяет активированным кровяным пластинкам продуцировать данный цитокин из α -гранул. Другая группа синтезированных белков тромбоцитарных α -гранул: фактор тромбоцитов 4, тромбоспондин-I и трансформирующий фактор роста β подавляет генерацию тромбоцитопоэзстимулирующего фактора [55]. Вышесказанное не позволяет убедительно судить о предполагаемом механизме влияния нутритивного статуса на число кровяных пластинок.

Выявленные нами, независимые от нутритивного статуса увеличение содержания в крови IL-10 в сравнении с контролем и отсутствие различий со здоровыми людьми в уровне TNF- α возможно объяснить преобладанием синдрома компенсаторной противовоспалительной реакции у пациентов с местной холодовой травмой. Данный феномен может привести к супрессии иммунной системы [1,41]. В пользу возникшего предположения свидетельствует отсутствие, согласно критериям исключения из исследования, больше, чем одного

из параметров системного воспаления R. Bone [150] в обеих группах пострадавших.

В то же время, моделирование в эксперименте жидким азотом локального контактного отморожения III степени крысам приводило к увеличению уровня в крови IL-6 и TNF- α [62, 122]. А у пациентов с нутритивной недостаточностью на фоне ахалазий и доброкачественных рубцовых сужениях пищевода отмечено увеличение концентрации в крови IL-1 β и уменьшение – IL-4 [27]. Тогда как по данным НИИ РАМН, у больных с ожирением содержание в крови TNF- α , IL-6 и IL-1 α возрастало по мере увеличения индекса массы тела [20].

Вместе с тем, не исключается и характерная для цитокинов флуктуация их концентрации в крови [203]. Опубликованы данные об увеличении содержания цитокинов TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-8 и IL-18 в сыворотке крови пострадавших с отморожением конечностей в раннем реактивном периоде травмы и снижении их концентрации в последующие периоды [74, 87, 94, 113, 120].

Тем самым подтверждается актуальность части нашего исследования о количестве клеток популяции CD3+ в крови больных с глубоким отморожением в зависимости от нутритивного статуса. Известно, что в ранние сроки местной холодовой травмы в 1,8 раза уменьшается число Т-хелперов [129], а в позднем реактивном периоде возникает стойкая поляризация CD4+/CD8+ в сторону количества CD3+CD8+ [109].

Наряду с этим, в публикации P. Vipath et al. акцентируется внимание на наличие отрицательной корреляции между уровнем неоптерина и числом CD4+ клеток в крови у пациентов, получающих антиретровирусную терапию [142].

Что касается приведённого интегрального показателя активации клеточного иммунитета [103], то неоптерин детектируется при значительном количестве патологических состояний [7, 32, 76, 77, 128, 197, 204, 206, 215, 230, 232], в том числе с развитием генерализованного воспаления [160, 195, 203]. Более того, опубликованы исследования о неоптерине, как о маркёре нутритивной недостаточности и критерии мальнутриции, ассоциированной с системным воспалением [196, 214]. Известно также, что метаболическое истощение

сопровождается высоким содержанием в крови цитокина-«кахектина» – фактора некроза опухолей альфа [38].

В нашем случае недостаточное влияние цитокинов Th-1 типа иммунного ответа на продукцию неоптерина [103] в группе пострадавших с нормальным нутритивным статусом связано, вероятно, с преобладающей генерацией противовоспалительных медиаторов у больных с местной холодовой травмой III–IV степени, что подтверждается результатами исследования.

В то же время, рост содержания неоптерина в крови пациентов с глубокими отморожениями конечностей и исходной трофической недостаточностью, несмотря на невозможность экстраполяции этого результата на установленную сывороточную концентрацию TNF- α в этой группе, позволяет рассматривать данный птерин, как провоспалительный маркер и критерий мальнутриции. Эти результаты согласуются с полученными данными D. Hrnčiarikova et al. при исследовании параметров нутритивного дефицита у пациентов старше 80 лет [214].

Таким образом, вероятность дисбаланса системной воспалительной и компенсаторной противовоспалительной реакций в ответ на холодовое повреждение и очаг инфекции в ране у больных с исходной трофической недостаточностью выше, чем у пострадавших с эйтрофией, что может привести к развитию сепсиса и органной дисфункции [1, 41]. Тем более что в работах P. Mommsen et al. и T. Baydar et al. указывается на высокое содержание неоптерина в крови и моче пациентов с септическим шоком и синдромом полиорганной недостаточности относительно больных с нетяжёлой стадией сепсиса [160, 195].

На фоне усиления лимфоцитарно-тромбоцитарных взаимодействий у пациентов с местной холодовой травмой [73, 74, 94, 120, 129] нами установлено, что лишь при отсутствии трофической недостаточности возрастает относительное количество лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов. Вместе с тем, степень ЛТА остаётся увеличенной в сравнении со здоровыми людьми как у больных с эйтрофией, так и при недостаточности питания. Несмотря на это, ЛТИ, а,

следовательно, и интенсивность лимфоцитарно-тромбоцитарных взаимодействий выше при нормальном трофическом статусе и выявленном большем количестве тромбоцитов в раннем реактивном периоде.

Известно, что дисцитокинемия модулирует феномен ЛТА у различных групп пациентов [22, 29, 30, 47]. В нашем случае преморбидная трофическая недостаточность не триггирована гиперкатаболизмом, как частью генерализованного воспалительного ответа [59], следовательно, отсутствует системное влияние медиаторов воспаления. Этим возможно объяснить незначительный рост относительного числа и меньшую степень ЛТА у пострадавших с мальнутрицией.

В то же время, у больных стенокардией, получающих антикоагулянтную терапию по традиционной схеме, в циркулирующей крови снижается относительное количество лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов, вероятно, за счёт повышенного перемещения активированных лимфоцитов и кровяных пластинок через сосудистую стенку [96]. Отмечено, что как при стабильной, так и при прогрессирующей стенокардии число ЛТА уменьшается в 2 раза [115]. Вместе с тем, при назначении таким пациентам небольших доз аспирина, ингибирующих тромбоцитарную циклооксигеназу, уменьшается синтез тромбоксана A_2 , агрегационное действие которого проявляется при повреждённой сосудистой стенке [54]. В результате, снижается контакт коагратов с эндотелием, и процент ЛТА в крови не отличается от нормальных показателей [96].

Нами выявлено, что недостаточность питания у пациентов с местной холодовой травмой III-IV степени сопровождается увеличением содержания в крови одного из птерицинов – неоптерина. При этом известно, что модуляция неоптеринемией внутриклеточного окислительно-восстановительного баланса [216] путём фосфорилирования белков семейства IκB [209] активирует транслокацию с последующей транскрипцией фактора NF-κB внутрь клеточного ядра [198]. В результате экспрессируются провоспалительные, протромботические и проатерогенные медиаторы [216].

Возможно экстраполировать преобладание циклооксигеназного пути в тромбоцитах с последующей гиперагрегацией у больных со стенокардией, не получающих небольшие дозы аспирина, на генерацию T_xA_2 , основного эффектора необратимой агрегации кровяных пластинок [54], индуцированного неоптерином у истощённых больных с глубоким отморожением. В обоих случаях имеет место повреждение сосудистой стенки, значительный контакт лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов с коллагеном, повышенная миграция их в ткани, и, следовательно, уменьшение относительного числа ЛТА в циркулирующей крови. Этим механизмом возможно объяснить и «относительную тромбоцитопению» у пациентов с трофической недостаточностью в раннем реактивном периоде местной холодовой травмы при отсутствии системного воспаления.

По данным Заболотских И.Б. и др. увеличение агрегации тромбоцитов отмечается у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии при, так называемом, гиперметаболическом энергодефиците [4], когда, по мнению авторов, происходит отставание скорости ресинтеза АТФ от возрастающего темпа общего метаболизма [124]. Действительно, синдром гиперметаболизма-гиперкатаболизма является инклюзивной составляющей генерализованного воспаления [59]. При этом метаболическая дисфункция триггирует нутритивную недостаточность [59], и в это же время отмечается увеличенное содержание неоптерина в крови [160, 195, 203].

Отвлекаясь далее от темы местной холодовой травмы, представляется возможным высказать предположение о вероятном влиянии более высокой концентрации неоптерина в крови при тяжёлом сепсисе [160, 195] на дисфункцию эндотелия, когда увеличивается синтез тромбоксана A_2 , приводящей вместе с уменьшением продукции простациклина и увеличением генерации фактора фон Виллебранда к возрастанию адгезии и агрегации тромбоцитов [42, 161]. При этом количество кровяных пластинок в крови уменьшается. Вместе с тем известно, что системное воспаление характеризуется индуцированным липополисахаридами грамотрицательных бактерий выбросом провоспалительных цитокинов тромбоцитами посредством экспрессии их толл-подобного рецептора 4. После

чего кровяные пластинки адгезируются и разрушаются в сосудах лёгких, их число в крови уменьшается [186, 210, 221].

Нами установлено, что в крови пациентов с отморожением конечностей III-IV степени независимо от нутритивного статуса не изменяется абсолютное количество CD3+CD4+ и В-лимфоцитов, естественных киллеров, а также клеток CD3+ и CD3+CD8+, хотя последние две популяции преобладают у пострадавших при исходной недостаточности питания относительно больных с эйтрофией, а коэффициент CD4+/CD8+ в этой же группе меньше контроля.

Данным обстоятельством также возможно объяснить меньшее количество лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов у пациентов с трофической недостаточностью в сравнении с пострадавшими без дефицита питания, так как клетками, способными к адгезивному взаимодействию с тромбоцитами, являются CD3+CD4+ и CD16+ [14, 15], при этом число последних не изменилось. Приведённые результаты согласуются с сообщением Гвоздевой О.В. с соавт. об уменьшении процента, абсолютного числа и степени ЛТА у больных диффузным токсическим зобом на фоне выраженного снижения в крови относительного и абсолютного количества CD3+CD4+ и натуральных киллеров [114].

В то же время, у исследуемых как с нормальным питанием, так и при наличии его дефицита возрастает абсолютное число активированных Т-лимфоцитов и клеток CD3+CD8+HLA-DR+ в крови, но число активированных Т-хелперов – только у больных с трофической недостаточностью. В целом активированное звено субпопуляционной структуры лимфоцитов в крови у пациентов с местной холодовой травмой и исходной мальнутрицией имеет большее количество клеток, чем у пострадавших с нормальным нутритивным статусом.

Полученные результаты согласуются с опубликованными данными о том, что у больных бронхиальной астмой и хроническим обструктивным заболеванием лёгких (ХОБЛ), у пациентов с ожирением и сахарным диабетом 2-го типа, а также у больных в 1-е сутки после острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) отмечается усиление экспрессии HLA-DR+ [43, 107, 112, 117]. При этом,

у пациентов с ХОБЛ регистрируется резкое повышение в крови клеток с маркером CD8+ [95], у больных в 1-е сутки после ОНМК возрастает иммунорегуляторный индекс [107, 127]. А у больных с местной холодовой травмой только при наличии нутритивной недостаточности уменьшается соотношение CD4+/CD8+, тогда как у больных ожирением и сахарным диабетом 2-го типа, ожирением и артериальной гипертензией, а также диффузным токсическим зобом данный коэффициент повышается [43, 114, 117]. Кроме этого, инкрипция HLA-DR+ в крови пациентов после эндопротезирования крупных суставов находится в когерентной зависимости от тяжести перипротезного воспаления [12].

Следует заметить, что уменьшение количества клеток CD3+ характерно как для пациентов с местной холодовой травмой в первые 3-4 суток [24], так и в первую неделю для больных с площадью ожога от 25 до 40 % [157]. Однако, эскалация числа Т-лимфоцитов с маркером HLA-DR+ в эти же сроки отмечается только у пострадавших с ожоговой болезнью [157] и пациентов с глубокими отморожениями и исходной нутритивной недостаточностью.

Помимо этого, наши результаты тождественны сообщению С. Wojciechowska о том, что у больных с дилатационной кардиомиопатией экспрессия HLA-DR+ когерентна содержанию в крови неоптерина [230].

Оперируя нашими данными об увеличении активированных Т-хелперов у пациентов с глубоким отморожением и недостаточностью питания и известным фактом о том, что активированные лейкоциты продуцируют матричную металлопротеазу, когда экстрацеллюлярный матрикс гидролизуется, и происходит расщепление α -изоформы TFPI [179], возможно объяснить уменьшение содержание этого естественного антикоагулянта в плазме пострадавших с мальнутрицией.

В крови больных с глубокими отморожениями конечностей и, диагностированной при поступлении трофической недостаточностью, через 3 недели госпитализации количество тромбоцитов и уровень АТ-III достигают

контрольных значений. Вид клинического питания не оказывает значимого влияния на динамику данных показателей.

Диета, с высоким содержанием противовоспалительных эйкозаноидов могла бы повлиять на количество тромбоцитов в крови, так как простаглицлин – интермедиат синтеза 6-кетопгF_{1a} из простаглицдина H₂ под влиянием простаглицлинсинтетазы [146] депримирует адгезию кровяных пластинок и их агрегацию [132]. Происходит это за счёт афинности простаглицдина I₂ к одноименным рецепторам миоцитов сосудистой стенки и тромбоцитов [54], в которых активизируется аденилатциклаза, повышается содержание цАМФ, после чего уменьшается уровень внутриклеточного кальция [132], проникшего в цитоплазму из тубулярной системы под влиянием сильного ионофора TxA₂ [146].

А простаглицлин, в свою очередь, при повреждённой сосудистой стенке угнетается тромбоксаном A₂ [146], в том числе, из-за нарушения соотношения числа кровяных пластинок к количеству эндотелиоцитов на уровне капилляров [88]. Кроме того, как обсуждалось выше: повышенное содержание неоптерина увеличивает генерацию TxA₂.

При этом, нормализация в плазме крови содержания АТ-III, способного инициировать продукцию антиагреганта PGI₂ через гепарансульфатные протеогликановые рецепторы базальной мембраны эндотелиоцитов [54], оспаривает более длительное назначение питания, обогащённого противовоспалительными ПНЖК.

При назначении в течение 3-х недель клинического питания с высоким содержанием глутамина и ω-3 ПНЖК в крови пациентов с местной холодовой травмой и исходной трофической недостаточностью уменьшаются абсолютные количества активированных клеток субпопуляционной структуры лимфоцитов как в динамике, так и в сравнении с пострадавшими, получающими в то же самое время высокобелковую диету. Кроме того, включение в 3-х-недельный рацион питания данных нутрицевтиков у больных с отморожениями конечностей III-IV степени и мальнутрицией на момент госпитализации сопровождается

увеличением абсолютного числа В-лимфоцитов по отношению к пострадавшим после курса стандартной ВБД.

В то же время известно, что глутамин в составе энтеральной смеси у пациентов с политравмой и энкрипцией HLA-DR⁺ на моноцитах в ранний посттравматический период приводил к эскалации экспрессии данного антигена на мононуклеарных клетках, хотя она и не достигала контрольных значений [135].

Опубликованы данные об уменьшении частоты некрэктомий у пациентов с глубокими отморожениями верхних и нижних конечностей, получающих аспирин и синтетический аналог простаглицлина по отношению к пострадавшим, которым назначалась ацетилсалициловая кислота в комбинации с фибринолитиком или периферическим вазодилататором [145, 229]. Видимо, у больных с местной холодной травмой необратимое подавление циклооксигеназы только в сочетании с прямым ингибитором ТхА₂ приводит к необходимой дезагрегации и положительному лечебному эффекту [177].

Вероятнее всего, у наших пациентов модуляция с помощью специфической нутритивной поддержки соотношения провоспалительных к противовоспалительным простааноидам и лейкотриенам в цикло-, липооксигеназном путях метаболизма арахидоновой кислоты [46, 130] позволила ослабить агрегационное действие тромбоксана А₂ [54], увеличить миграцию в ткани лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов и количество в крови активированных Т-хелперов, способных активно адгезировать кровяные пластинки [17]. У больных ИБС для возвращения показателей ЛТА, не отличавшихся от контроля, оказалось достаточным включения в терапию аспирина [31, 96, 110].

Вместе с тем опубликованы данные, что тромбоциты способствуют перемещению в ткани клеток с маркерами CD3⁺CD8⁺ и CD19⁺ [182, 183]. Поэтому, в нашем случае наряду с уменьшением количества CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺ отмечается снижение числа CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺, а при аутоиммунном заболевании, известном как болезнь Грейвса, уменьшается количество CD19⁺ [114]. Нельзя с уверенностью утверждать, усиливается ли миграция В-

лимфоцитов в повреждённые ткани у наших пациентов, или, наоборот ослабевает, потому что на число CD19+ в крови оказывает активирующее влияние полученный с диетой глутамин, чья генерирующая роль на иммунокомпетентные клетки, способные к фульминантной пролиферации, широко известна [40, 130, 135].

Таким образом, исходная трофическая недостаточность у пациентов с глубокими отморожениями конечностей раскрывает определённые аспекты в механизмах нарушений систем гемостаза и адаптивного иммунитета, индуцированных местной холодовой травмой. При этом в дальнейшем состоянии гуморального иммунитета играет роль вид назначаемого пострадавшим клинического питания.

Представленное обсуждение результатов собственных исследований возможно предложить в виде следующей патогенетической схемы (Рисунок 12).

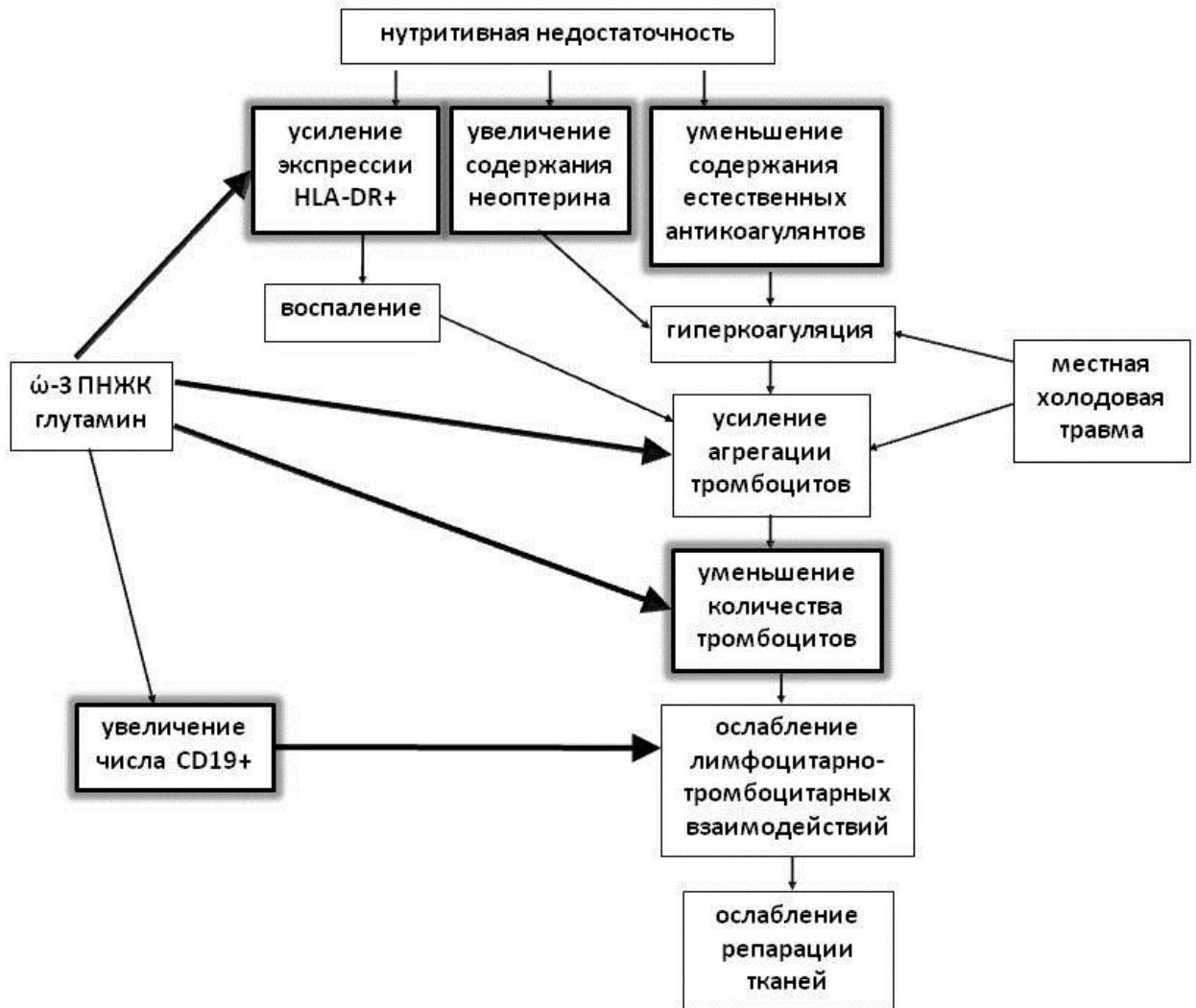


Рисунок 12. Схема патогенеза изменений иммунитета и гемостаза у больных с отморожениями конечностей III-IV степени при нутритивной недостаточности. Примечание: в жирных рамках выделены результаты собственных исследований; большими стрелками выделено действие с противоположным эффектом.

Выводы:

1. В раннем реактивном периоде местной холодовой травмы у пациентов с глубокими отморожениями конечностей и преморбидной трофической недостаточностью относительно пострадавших с нормальным нутритивным статусом уровень в крови TFPI ниже на 50 % ($p = 0,022$), АТ-III – на 20 % ($p = 0,047$), а количество тромбоцитов в крови меньше на 30 % ($p = 0,042$).

2. В крови больных с местной холодовой травмой III-IV степени и исходной недостаточностью питания содержание неоптерина в 2,5 раза больше ($p = 0,015$), чем у пострадавших с эйтрофией. При этом уровень TNF- α ($p = 0,6$) и концентрация IL-10 ($p = 0,799$) в крови не зависят от исходного нутритивного статуса.
3. У пациентов с глубокими отморожениями конечностей увеличивается ($p < 0,001$; $p = 0,006$) степень ЛТА независимо от преморбидного трофического статуса. Относительное число ЛТА возрастает ($p < 0,001$) только у пострадавших с эйтрофией. При мальнутриции относительное число ЛТА в 1,5 раза ($p = 0,009$), а ЛТИ в 1,4 раза меньше ($p = 0,019$), чем у больных с нормальным нутритивным статусом.
4. В крови пациентов с отморожениями конечностей III-IV степени и исходной недостаточностью питания абсолютное число CD3+ на 27 % ($p = 0,037$) и CD3+CD8+ на 44 % ($p = 0,025$) больше, чем у больных с эйтрофией. При этом активированное звено субпопуляционной структуры лимфоцитов в крови пациентов с мальнутрицией имеет большее ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p = 0,002$) количество клеток, чем у пострадавших с нормальным трофическим статусом.
5. При клиническом питании с высоким содержанием глутамина и ω -3 полиненасыщенных жирных кислот уменьшается абсолютное количество активированных клеток субпопуляций лимфоцитов в крови пациентов с местной холодовой травмой конечностей III-IV степени и исходной нутритивной недостаточностью как в динамике ($p < 0,024$), так и в сравнении с пострадавшими, получавшими стандартную высокобелковую диету ($p < 0,05$). При этом абсолютное число В-лимфоцитов в крови больных после оригинального питания в 1,5 раза больше ($p < 0,05$).
6. У пациентов с преморбидной трофической недостаточностью и глубокими отморожениями конечностей количество тромбоцитов крови ($p = 0,684$; $p = 0,686$) и содержание в плазме крови АТ-III ($p = 0,134$; $p = 0,859$) через 3

недели достигают контрольных значений независимо от вида клинического питания.

Практические рекомендации. Пациентам с глубокими отморожениями конечностей и исходной трофической недостаточностью рекомендуется назначение клинического питания с высоким содержанием глутамина и ω -3 полиненасыщенных жирных кислот. Программа нутритивной поддержки может быть реализована в виде вспомогательного питания энтеральной смесью типа «Иммун» по методике sip feeding и, при необходимости, дополнительным парентеральным введением раствора глутамина.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АДФ – аденозиндифосфат
- АТ-III – антитромбин-III
- АТФ – аденозинтрифосфат
- ВБД – высокобелковая диета
- ИФА – иммуноферментный анализ
- ЛТА – лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия
- ЛТИ – лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс (степень лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии)
- Me – медиана (50-й процентиль)
- ОВД – общевосстановительная диета
- ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты
- ПРП – поздний реактивный период местной холодовой травмы
- РРП – ранний реактивный период местной холодовой травмы
- CD3+ – Т-лимфоциты
- CD3+CD4+ – Т-хелпер лимфоциты
- CD3+CD8+ – Т-цитотоксические лимфоциты
- CD3+HLA-DR+ – активированные Т-лимфоциты
- CD3+CD4+HLA-DR+ – активированные Т-хелпер лимфоциты
- CD3+CD8+HLA-DR+ – активированные Т-цитотоксические лимфоциты
- CD19+ – В-лимфоциты
- CD3-CD16+CD56+ – натуральные киллеры
- CD3+CD16+CD56+ – натуральные киллеры Т-лимфоцитов
- ESPEN – Европейская ассоциация парентерального и энтерального питания
- IFN – интерферон
- Ig – иммуноглобулин
- IL – интерлейкин
- NF – ядерный фактор

- NK – натуральный киллер
- p – статистическая значимость
- PGI₂ – простагландин I₂ (простаглицлин)
- TF – тканевой фактор
- TFPI – ингибитор пути тканевого фактора (ингибитор внешнего пути свёртывания крови)
- Th – Т-хелпер
- TNF – фактор некроза опухолей
- TxA₂ – тромбоксан A₂

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александрович, Ю.С. Интенсивная терапия инфекционных заболеваний у детей / Ю.С. Александрович, В.И. Гордеев, К.В. Пшениснов. – СПб. : Элбис-СПб, 2010. – 320 с.
2. Антикоагулянтная активность низкомолекулярных гепаринов, полученных с помощью комплекса гидролаз / Н.Н. Дрозд, Толстенков А.С., Банникова Г.Е [и др.] // Эксперимент. и клин. фармакология. – 2007. – № 6. – С.19-34.
3. Антитромбин III в интенсивной терапии / И.В. Нехаев, А.О. Приходченко, О.Г. Мазурина [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2015. – Т. 61, № 1. – С. 22-27.
4. Артерио-венозная разница параметров гемостаза у реанимационных больных с различными типами энергодефицита / И.Б. Заболотских, С.В. Синьков, Д.С. Величко, А.А. Федоренко // Общ. реаниматология. – 2013. – Т. 9, № 4. – С. 23-29.
5. Балуда, В.П. Претромботическое состояние. Тромбоз и его профилактика / В.П. Балуда, М.В. Балуда, А.П. Гольдберг – М.-Амстердам : Зеркало М, 1999. – 298 с.
6. Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М. : Ньюдиамед, 2001. – 296 с.
7. Белокопытова, И.С. Диагностическое значение некоторых маркеров иммунного воспаления при ишемической болезни сердца / И.С. Белокопытова, О.В. Москалец, В.В. Яздовский // Рос. иммунолог. журн. – 2014. – Т. 8, № 3. – С. 509-512.
8. Брегадзе, А.А. Ранняя диагностика и комплексное лечение отморожений нижних конечностей : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.22 / Брегадзе Андрей Анатольевич ; Якут. гос. ун-т им. М.К. Аммосова. – Якутск, 2006. – 20 с.

9. Бубнова, М.Г. Плейотропная активность антигипертензивных препаратов в атеротромбогенезе / М.Г. Бубнова // Кардиоваскуляр. терапия и профилактика. – 2008. – № 6. – С. 94-104.
10. Бурячковская, Л.И. Гетерогенность тромбоцитов человека и животных. Связь морфологических особенностей с функциональным состоянием : автореф. дис. ... д-ра. биол. наук : 03.00.25 / Бурячковская Людмила Ивановна ; Рос. кардиолог. научно-производств. комплекс. – М., 2007. – 46 с.
11. Бышевский, А.Ш. Связь гемостаза с перекисным окислением липидов / А.Ш. Бышевский, С.Л. Галян, П.Я. Шаповалов. – М. : Мед. книга, 2003. – 96 с.
12. Взаимосвязь между инфекционновоспалительными осложнениями после эндопротезирования суставов и иммунофенотипом лимфоцитов и моноцитов / Ю.Ю. Чуксина, С.В. Шевелев, О.В. Москалец [и др.] // Рос. иммунолог. журн. – 2014. Т. 8, № 3. – С. 630-633.
13. Винник, Ю.С. Обоснование комплексной терапии отможенных высоких степеней : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.22 / Винник Юрий Семенович ; Барнаул. – Барнаул, 1978. – 26 с.
14. Витковский, Ю.А. Итоги 10-летнего исследования механизмов лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Забайк. мед. вестн. – 2008. – № 2. – С. 36-41.
15. Витковский, Ю.А. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Мед. иммунология. – 2006. – Т. 5-6, № 8. – С. 745-753.
16. Витковский, Ю.А. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарного ризеткообразования / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Иммунология. – 1999. – № 4. – С. 35-37.
17. Витковский, Ю.А. Роль цитокинов в регуляции системы гемостаза : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.17, 14.00.16 / Витковский Юрий Антонович ; Чит. гос. мед. акад. – Чита, 1997. – 40 с.

18. Вихриев, Б.С. Местные поражения холодом / Б.С. Вихриев, С.Х. Кичемасов, Ю.Р. Скворцов. – СПб. : Золотой век, 1991. – 189 с.
19. Галявич, А.С. Влияние антигипертензивных средств на некоторые гуморальные показатели функции эндотелия / А.С. Галявич, А.Р. Хамидуллина, Р.А. Галявич // Кардиология. – 2009. – № 5. – С. 30-32.
20. Генетические маркеры метаболизма в оценке цитокинового статуса у больных с ожирением / Т.Б. Сенцова, О.О. Кириллова, В.А. Тутельян [и др.] // Иммунология. – 2014. – Т. 35, № 5. – С. 241-244.
21. Герасимов, А.А. Состояние системы резистентности организма у здоровых людей и у больных с холодовой травмой в условиях Забайкалья : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.16 / Герасимов Александр Александрович ; Чит. гос. мед. акад. – Чита, 1996. – 21 с.
22. Гергесова, Е.Е. Агрегация тромбоцитов, лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и группы крови АВ0 у больных гриппом А(Н1N1)/2009 / Е.Е. Гергесова, Ю.А. Витковский, А.В. Солпов // Забайк. мед. вестн. – 2011. – № 1. – С. 4-9.
23. Гольдерова, А.С. Особенности иммуно-гематологического статуса больных с отморожениями в Республике Саха (Якутия) : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.16 / Гольдерова Айталиа Семеновна ; Якут. гос. ун-т им. М.К. Аммосова. – Якутск, 2006. – 21 с.
24. Гольдерова, А.С. Состояние иммунного статуса больных с отморожениями в Республике Саха (Якутия) / А.С. Гольдерова, Ф.А. Захарова // Якут. мед. журн. – 2007. – № 3. – С. 26-28.
25. Горелик, И.Э. Профилактика некроза при отморожениях конечностей в дореактивном и раннем реактивном периодах : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.17 / Горелик Игорь Эрнстович ; Кемер. гос. мед. акад. – Кемерово, 2010. – 22 с.
26. Григорьев, Е.В. Обоснование использования глутамина при абдоминальном сепсисе / Е.В. Григорьев, Е.А. Каменева, Г.В. Вавин // Вестн. анестезиологии и реаниматологии. – 2012. – Т. 9, № 5. – С. 48-55.

27. Динамика концентрации цитокинов и микроэлементов в свете нутритивной недостаточности при реконструктивных операциях на пищеводе [Электронный ресурс] / И.В. Беркасова, Е.И. Верещагин, В.А. Валеева [и др.] // Медицина и образование в Сибири. – 2012. – №. 6. – Режим доступа : http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=882. – 22.08.2015.
28. Динамика эндокринного ответа при стресс-реакциях в хирургическом лечении калькулёзного холецистита / И.М. Самохвалов, Г.В. Зачиняев, Б.Г. Андрюков [и др.] // Вестн. Рос. военно-мед. акад. – 2013. – Т. 43, № 3. – С. 38-42.
29. Емельянова, А.Н. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и содержание провоспалительных цитокинов у больных рожей / А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский // Сибир. мед. журн. – 2012. – Т. 27, № 1. – С. 57-59.
30. Епифанцева, Н.В. Взаимосвязь лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии с цитокинами у детей при коклюшной инфекции / Н.В. Епифанцева, Ю.А. Витковский // Забайк. мед. вестн. – 2011. – № 2. – С. 98-103.
31. Жеребцова, С.В. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия при ишемической болезни сердца : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.16 / Жеребцова Светлана Владимировна ; Чит. гос. мед. акад. – Чита, 2008. – 32 с.
32. Значение маркеров воспаления в развитии атеросклероза и его осложнений при системной красной волчанке / Т.В. Попкова, Т.А. Панафидина, Д.С. Новикова [и др.] // Научно-практ. ревматология. – 2013. – № 6. – С. 646-653.
33. Зубаиров, Д.М. Микровезикулы в крови, функция и их роль в тромбообразовании / Д.М. Зубаиров, Л.Д. Зубаирова. – М. : Геотар-Медиа, 2009. – 168 с.
34. Изменения агрегационных свойств тромбоцитов у больных с местной холодовой травмой / К.Г. Шаповалов, М.И. Михайличенко, В.А. Иванов, Ю.А. Витковский // Дальневост. мед. журн. – 2007. – № 4. – С. 33-35.
35. Изменения активности метаболизма и гормонального профиля после множественной скелетной травмы в эксперименте / С.Н. Бочаров, В.И.

- Кулинский, В.Г. Виноградов [и др.] // Сибир. мед. журн. – 2011. – Т. 101, № 2. – С. 90-93.
36. Ингибитор свободно-радикальных процессов снижает уровень синтеза белков в зоне огнестрельной раны и ослабляет развитие общего адаптационного синдрома / И.Н. Тодоров, Г.Н. Богданов, Ю.И. Митрохин [и др.] // Изв. Рос. акад. наук. Сер. биолог. – 2006. – № 6. – С. 680-687.
37. Исторические аспекты изучения проблемы стресса / В.Я. Апчел, В.М. Лымаренко, Н.В. Павлова, О.В. Леонтьев // Вестн. Рос. военно-мед. акад. – 2012. – Т. 40, № 4. – С. 255-260.
38. Каратеев, Д.Е. Борьба с многоликим кахектином / Д.Е. Каратеев, Т.Г. Синельникова, П.Ф. Литвицкий // Науч.-практ. ревматология. – 2011. – № 3. – С. 75-78.
39. Каргин, В.Д. Особенности антикоагулянтной терапии флеботромбоза у больного с приобретённым дефицитом антитромбина / В.Д. Каргин, Л.П. Папаян // Гематология и трансфузиология. – 2008. – № 1. – С. 35-37.
40. К вопросу о нутритивной поддержке с применением глутамина у пациентов с политравмой / В.Б. Шуматов, Н.Д. Ермакова, В.А. Павлов [и др.] // Фундамент. исслед. – 2015. – № 1-1. – С. 182-189.
41. Кетлинский, С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб. : Фолиант, 2008. – 552 с.
42. Киричук, В.Ф. Дисфункция эндотелия / В.Ф. Киричук, П.В. Глыбочко, А.И. Понамарева. – Саратов. мед. ун-т, 2008. – 112 с.
43. Клеточный иммунитет у больных с артериальной гипертензией и ожирением / Э.Н. Трушина, О.К. Мустафина, С.Х. Сото [и др.] // Вопросы питания. – 2012. – Т. 81, № 6. – С. 19-26.
44. Климанский, В.А. Трансфузионная терапия при хирургических заболеваниях / В.А. Климанский, Я.А. Рудаев. – М. : Медицина, 1984. – 256 с.

45. Клинические эффекты сбалансированных жировых эмульсий у больных с тяжёлым абдоминальным сепсисом / О.Г. Малкова, И.Н. Лейдерман, А.Л. Левит [и др.] // Вестн. интенсив. терапии. – 2015. – № 1. – С. 44-57.
46. Клиническое питание больных в интенсивной медицине : практ. руководство / под ред. В.М. Луфта, С.Ф. Багненко, Ю.А. Щербина. – Спб. : 2010. – 428 с.
47. Князева, А.С. Агрегационная активность тромбоцитов и образование лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов у носителей генетического полиморфизма цитокинов больных хронической ишемией головного мозга / А.С. Князева, Н.Н. Страмбовская // Забайк. мед. вестн. – 2014. – № 1. – С. 32-38.
48. Коннов, В.А. Нутритивный статус у больных с отморожениями конечностей III-IV степени [Электронный ресурс] / В.А. Коннов, К.Г. Шаповалов // Забайк. мед. вестн. – 2011. – № 2. – Режим доступа : http://www.medacadem.chita.ru/zmv2/index.php?option=com_library&task=category_detail&id=15&category_name=Номер+2+за+2011+год&Itemid=2. – 24.08.2015.
49. Коннов, В.А. Параметры сосудисто-тромбоцитарного и плазменно-коагуляционного гемостаза при исходной недостаточности питания у больных с отморожениями конечностей III-IV степени / В.А. Коннов, К.Г. Шаповалов // Скорая мед. помощь. – 2011. – № 3. – С. 34-38.
50. Коннов, В.А. Метаболические нарушения и возможности нутритивной поддержки при критических состояниях [Электронный ресурс] / В.А. Коннов, К.Г. Шаповалов // Забайк. мед. вестн. – 2012. – № 1. – Режим доступа : http://www.medacadem.chita.ru/zmv2/index.php?option=com_library&task=category_detail&id=16&category_name=%D0%9D%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D1%80%20%D0%B7%D0%B0%202012%20%D0%B3%D0%BE%D0%B4&Itemid=28&start=3. – 24.08.2015.

51. Коннов, В.А. Содержание медиаторов иммунного ответа в плазме больных с местной холодовой травмой при исходной недостаточности питания / В.А. Коннов, К.Г. Шаповалов // Вестн. анестезиологии и реаниматологии. – 2014. – Т. 11, № 5. – С. 34-39.
52. Костюченко, Л.Н. Стратегии нутриционной терапии / Л.Н. Костюченко // Эксперимент. и клин. гастроэнтерология. – 2014. – Т. 104, № 4. – С. 4-8.
53. Котельников, В.П. Отморожения / В.П. Котельников. – М. : Медицина, 1988. – 256 с.
54. Кузник, Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии / Б.И. Кузник. – Чита : Экспресс-изд-во, 2010. – 832 с.
55. Кузник, Б.И. Цитокины и система гемостаза I. Цитокины и сосудисто-тромбоцитарный гемостаз / Б.И. Кузник // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2012. – № 2. – С. 12-23.
56. Кузник, Б.И. Цитокины и система гемостаза I. Цитокины и коагуляционный гемостаз / Б.И. Кузник // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2012. – № 3. – С. 9-29.
57. Кузник, Б.И. О роли сосудистой стенки в процессе гемостаза / Б.И. Кузник // Успехи соврем. биологии. – 1973. – № 1. – С. 61-85.
58. Куклина, Е.Ю. Хирургическое лечение местной холодовой травмы : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / Куклина Елена Юрьевна ; Ин-т. травматологии и ортопедии Науч. центра реконструкций и восстановит. хирургии ВСНЦ СО РАМН. – Иркутск, 2000. – 23 с.
59. Лейдерман, И.Н. Современная концепция нутритивной поддержки при критических состояниях. 5 ключевых проблем [Электронный ресурс] // Интенсивная терапия. – 2005. – № 1. – Режим доступа : <http://icj.ru/journal/number-1-2005/14-sovremennaya-koncepciya-nutritivnoy-podderzhki-pri-kriticheskikh-sostoyaniyah-5-klyuchevykh-problem.html>. – 22.08.2015.

60. Лейдерман, И.Н. Нутритивная поддержка в отделении реанимации и интенсивной терапии. Стандартные алгоритмы и протоколы: руководство для врачей / И.Н. Лейдерман, А.В. Николенко, О.Г. Сивков. – 2-е изд., доп. и перераб. – М. : 2010. – 36 с.
61. Лейдерман, И.Н. Нутритивная поддержка в хирургической клинике. Стандартные алгоритмы и протоколы: руководство для врачей / И.Н. Лейдерман, О.Г. Сивков. – 2-е изд., доп. и перераб. – М. : 2010. – 28 с.
62. Леонтьева, Л.В. Содержание компонентов соединительной ткани и цитокинов в крови крыс при локальной холодовой травме и комбинации её с хронической и острой алкогольной интоксикацией / Л.В. Леонтьева // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т. 7, № 2. – С. 75-79.
63. Лечебная тактика при отморожениях / В.К. Гостищев, К.В. Липатов, А.В. Бородин [и др.] // Хирургия. Журн. им. Н.И. Пирогова. – 2010. – № 6. – С. 10-15.
64. Липатов, К.В. Выбор оптимальной хирургической тактики при лечении больных с глубокими отморожениями / К.В. Липатов, И.Д. Канорский, Ф.А. Фархат // Хирургия. – 2004. – № 6. – С. 42-45.
65. Локальная холодовая травма: вопросы патогенеза, оценки тяжести и лечения (обзор литературы) / Ю.С. Винник, А.Б. Салмина, М.Ю. Юрьева, О.В. Теплякова // Моск. хирург. журн. – 2011. – № 1. – С. 42-48.
66. Луфт, В.М. Современные возможности нутриционной поддержки больных в интенсивной медицине / В.М. Луфт // Вестн. анестезиологии и реаниматологии. – 2010. – № 3. – С. 42-51.
67. Луфт, В.М. Клинические аспекты нутритивной поддержки больных в медицине: идеология, возможности, стандарты / В.М. Луфт, А.В. Луфт // Рос. мед. журн. – 2009. – № 5. – С. 14-18.
68. Малкова, О.Г. Основные закономерности развития расстройств липидного и углеводного обмена при системной воспалительной реакции / О.Г. Малкова, И.Н. Лейдерман, А.Л. Левит // Тольятт. мед. консилиум. – 2012. – № 3-4. – С. 35-46.

69. Маракуца, Е.В. Патогенетическое обоснование дифференцированной лечебной тактики при отморожениях : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.17 / Маракуца Евгений Викторович ; Моск. мед. акад. им. И.М. Сеченова. – М., 2010. – 24 с.
70. Марков, Х.М. Оксидный стресс и дисфункция эндотелия / Х.М. Марков // Патолог. физиология. – 2005. – Т. 4. – С. 5-10.
71. Методы сравнительной оценки компонентного состава организма у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника / И.Е. Хорошилов, С.В. Иванов, Е.Б. Авалуева, М.В. Храброва // Эксперимент. и клин. гастроэнтерология. – 2014. – Т. 104, № 4. – С. 9-14.
72. Механизмы развития полиорганной недостаточности при шокогенной травме: клинический подход к проблеме / Б.Н. Шах, В.Н. Лапшин, В.М. Теплов [и др.] // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. – 2011. – Т. 170, № 6. – С. 93-97.
73. Михайличенко, М.И. Лимфоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия у больных с холодовой травмой / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, Ю.А. Витковский // Забайк. мед. вестн. – 2006. – № 2. – С. 20-22.
74. Михайличенко, М.И. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, агрегации тромбоцитов, цитокинов в развитии микроциркуляторных нарушений при местной холодовой травме : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.16 / Михайличенко Максим Игоревич ; Чит. гос. мед. акад. – Чита, 2009. – 22 с.
75. Мониторинг метаболизма у больных в критических состояниях / М.В. Петрова, А.В. Бутров, Ш.Д. Бихарри, М.Н. Сторчай // Эффектив. фармакотерапия. – 2014. – № 36. – С. 8-13.
76. Некоторые закономерности изменения уровня неоптерина у пациентов со злокачественными опухолями [Электронный ресурс] / Б.С. Хышиктуев, З.Ц. Ринчинов, П.Б. Цыдендамбаев, Р.Ю. Хлобыстин [и др.] // Забайк. мед. вестн. – 2008. – № 2. – Режим доступа : <http://chitgma.ru/zmv2/journal/2008-2/4.pdf>. – 22.08.2015.

77. Неоптерин – потенциальный диагностический и прогностический маркер при инфекционных заболеваниях / К.Р. Дудина, М.М. Кутателадзе, О.О. Знойко [и др.] // Каз. мед. журн. – 2014. – Т. 95, № 6. – С. 938-943.
78. Николенко, А.В. Скрининг нутритивной недостаточности в ЛПУ Пермского края / А.В. Николенко, И.Н. Прелоус // Инновац. развитие соврем. науки : Сб. ст. Международ. научно-практ. конф. – Уфа РИЦ БашГУ, 2010. – С. 62.
79. Николаев, В.М. Особенности адаптационной реакции у экспериментальных животных при воздействии низких температур / В.М. Николаев, А.С. Гольдерова // Якут. мед. журн. – 2006. – № 4. – С. 21-23.
80. Новоженев, В.Г. Структура трофической недостаточности у раненных при травматической болезни / В.Г. Новоженев, И.Г. Бакулин, В.М. Луфт // Военно-мед. журн. – 2001. – № 11. – С. 21-26.
81. Новый метод оценки доли жира в структуре массы тела как показатель нутритивного статуса механизаторов сельского хозяйства / А.В. Спирин, Е.С. Буянов, А.М. Старшов [и др.] // Здоровоохранение Рос. Федерации. – 2015. – Т. 59, № 2. – С. 37-41.
82. Нутритивная поддержка как полноценная лечебная технология в комплексе методов интенсивной терапии критических состояний. Так ли легко накормить тяжелого больного? / И.Н. Лейдерман, Н.Ш. Гаджиева, Д.А. Левит [и др.] // Укр. журн. екстрем. медицины ім. Г.О. Можаяева. – 2013. – Т. 14, № 4. – С. 120-128.
83. Особенности экспрессии тканевого фактора моноцитами периферической крови при холодовом повреждении / К.Г. Шаповалов, В.А. Иванов, М.И. Михайличенко [и др.] // Дальневост. мед. журн. – 2008. – № 3. – С. 42-44.
84. Парентеральное питание в интенсивной терапии и хирургии : метод. рекомендации М-ва здравоохранения и соц. развития РФ от 29 августа 2006 г. №4630 / А.В. Бутров, Т.С. Попова, С.В. Свиридов [и др.]. – М. : 2006. – 45 с.

- 85.Петрищев, Н.Н. Нарушение адгезионной активности как форма эндотелиальной дисфункции / Н.Н. Петрищев, Л.В. Васина // Трансляц. медицина. – 2014. – № 3. – С. 5-15.
- 86.Петрищев, Н.Н. Физиология и патофизиология эндотелия / Н.Н. Петрищев, Т.Д. Власов // Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. – СПб., 2003. – С. 4-38.
- 87.Повреждение клеток эндотелия и содержание цитокинов у больных в разные периоды местной холодной травмы / К.Г. Шаповалов, Е.А. Томина, М.И. Михайличенко [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2008. – Т. 47, № 1. – С. 35-37.
- 88.Полифункциональность тромбоцитов, их активация и возможности её оценки / Л.И. Бурячковская, И.А. Учитель, А.Б. Сумароков, Е.Г. Попов // Бюл. НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН : Сердечно-сосудистые заболевания. – 2007. – Т. 8, № 2. – С. 43-50.
- 89.Предупреждение развития некроза при отморожениях с оледенением тканей / Р.З. Алексеев, М.И. Томский, А.С. Гольдерова [и др.] // Международ. журн. прикладных и фундам. исслед. – 2015. – № 8-1. – С. 35-41.
- 90.Приказ М-ва здравоохранения РФ от 5 августа 2003 г. №330 О мерах по совершенствованию лечебного питания в лечебно-профилактических учреждениях РФ [Электронный ресурс] // Рос. газета. – 2003. – № 3306. – Режим доступа : <http://docs.cntd.ru/document/901871304>. – 22.08.2015.
- 91.Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М. : Медиасфера, 2002. – 312 с.
- 92.Регуляция тромбином клеточных функций через рецепторы, расщепляемые протеиназами / С.К. Дерриан, Б.П. Демиано, М.Р. Д'Андре [и др.] // Биохимия. – 2002. – № 1. – С. 66-76.
- 93.Роль и механизмы участия тромбоцитов в воспалении / Э.Ф. Баринов, О.Н. Сулеев, И.А. Прилуцкая [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2014. – Т. 60, № 4. – С. 27-33.

94. Роль лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, цитокинов и эндотелиальной дисфункции в патогенезе повреждения холодом / К.Г. Шаповалов, Е.А. Томина, М.И. Михайличенко, Ю.А. Витковский // Патолог. физиология и эксперимент. терапия. – 2009. – № 1. – С. 39-40.
95. Роль цитотоксических лимфоцитов в воспалении у больных хронической обструктивной болезнью лёгких в стадиях обострения и ремиссии / Н.А. Распопина, Е.Г. Шуганов, Ф.Н. Палеев [и др.] // Альманах клин. медицины. – 2014. – № 35. – С. 49-53.
96. Романюк, С.В. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных со стенокардией и острым коронарным синдромом / С.В. Романюк, Ю.А. Витковский, А.В. Солпов // Современ. науч. исслед. и инновации. – 2012. – № 11. – Режим доступа : <http://web.snauka.ru/issues/2012/11/18607>. – 22.08.2015.
97. Руднов, В.А. Сепсис: современные подходы к диагностике и интенсивной терапии (часть первая) / В.А. Руднов // Вестн. анестезиологии и реаниматологии. – 2010. – Т. 7, № 1. – С. 48-57.
98. Руднов, В.А. Клиническая значимость и возможные пути коррекции гипергликемии при критических состояниях / В.А. Руднов // Медицина неотложн. состояний. – 2013. – Т. 49, № 2. – С. 54-61.
99. Руководство по гематологии : в 3 т. Т. 3 / под ред. А.И. Воробьёва. – 3-изд., испр. и перераб. – М. : Ньюдиамед, 2005. – С. 9-147.
100. Румянцева, С.А. Патолофизиологическая основа комплексной нейропротекции при ишемии мозга / С.А. Румянцева, В.В. Афанасьев, Е.В. Силина / Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2009. – Т. 109, № 3. – С. 64-68.
101. Рыбдылов, Д.Д. Диагностика и лечение местной холодовой травмы : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.22 / Рыбдылов Данзан Доржиевич ; Восточно-Сиб. науч. центр СО РАМН. – Иркутск, 2000. – 24 с.
102. Рябов, Г.А. Критические состояния в хирургии / Г.А. Рябов. – М. : Медицина, 1979. – 320 с.

103. Свиридов, Е.А. Неоптерин и его восстановленные формы: биологическая роль и участие в клеточном иммунитете / Е.А. Свиридов, Т.А. Телегина // Успехи биолог. химии. – 2005. – № 45. – С. 355-390.
104. Селье, Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М. : Медгиз, 1960. – 254 с.
105. Семенов, Д.А. Различия морфофункциональной адаптации к общему охлаждению тонкой и толстой кожи под влиянием лазера и эмоксипина / Д.А. Семенов, С.С. Целуйко // Дальневосточ. мед. журн. – № 4. – 2006. – С. 95-97.
106. Сепсис. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение : практ. руководство / под ред. В.С. Савельева, Б.Р. Гельфанда. – М. : Мед. информац. агенство, 2011. – 352 с.
107. Сергеева, С.П. IL-1В, IL-10, ИНФ-Г, ФНО-А, белок S100В, АМА-М2 и клеточный иммунный статус после острого нарушения мозгового кровообращения / С.П. Сергеева, Л.М. Ерофеева, М.М. Гультяев // Патолог. физиология и эксперимент. терапия. – 2011. – № 1. – С. 41-45.
108. Сизоненко, В.А. Биорегулирующая терапия при термической травме / В.А. Сизоненко, А.Р. Варфоломеев. – Чита : Поиск, 1999. – 160 с.
109. Сизоненко, В.А. Холодовая травма / В.А. Сизоненко. – Чита : Экспресс-изд-во, 2010. – 324 с.
110. Система гемостаза, лимфоцитарно-тромбоцитарные взаимоотношения, белки острой фазы воспаления и цитокины у больных с различными формами ишемической болезни сердца / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Говорин [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2009. – № 1. – С. 49-63.
111. Смирнова, Л.М. Нутритивная поддержка и выбор её тактики у критических пациентов / Л.М. Смирнова // Медицина неотложных состояний. – 2015. – Т. 64, № 1. – С. 136-140.

112. Смирнова, О.В. Нарушения иммунного статуса у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких / О.В. Смирнова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2014. – № 2. – С. 43-51.
113. Содержание цитокинов в крови больных при местной холодовой травме / К.Г. Шаповалов, Е.А. Томина, М.И. Михайличенко, В.А. Иванов [и др.] // Мед. иммунология. – 2008. – № 1. – С. 89-92.
114. Состояние иммунитета и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при диффузном токсическом зобе / Б.И. Кузник, Ю.А. Витковский, О.В. Гвоздева [и др.] // Мед. иммунология. – 2010. – Т. 12, № 1-2. – С. 133-138.
115. Состояние сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарных взаимоотношений и свёртываемости крови, взятой из различных бассейнов сосудистого русла у больных ИБС / Б.И. Кузник, Ю.А. Витковский, Е.Б. Порушничак [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2009. – № 2. – С. 50-60.
116. Сравнительная оценка эффективности энтерального питания с различными вариантами субстратного обеспечения у пациентов с тяжёлой термической травмой и сепсисом / В.В. Кулабухов, А.Н. Кудрявцев, А.Г. Чижов [и др.] // Вестн. интенсив. терапии. – 2014. – № 3. – С. 70-77.
117. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных сахарным диабетом типа 2 и ожирением / Э.Н. Трушина, О.К. Мустафина, С.Х. Сото [и др.] // Вопросы питания. – 2012. – Т. 81, № 5. – С. 60-65.
118. Титов, В.Н. Диагностическое значение эндотелийзависимой вазодилатации / В.Н. Титов // Клин. лаборатор. диагностика. – 2009. – № 2. – С. 3-16.
119. Тищенко, Е.Г. Регуляторные эффекты взаимодействия гликозаминогликанов углеводной выстилки люминальной сосудистой поверхности с низко- и высокомолекулярными липидами / Е.Г. Тищенко, А.Д. Турашев, А.В. Максименко // Кардиолог. вестн. – 2007. – № 2. – С. 68-71.

120. Томина, Е.А. Роль эндотелиальной дисфункции, цитокинов и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии в патогенезе местной холодовой травмы : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.16 / Томина Елена анатольевна ; Чит. гос. мед. акад. – Чита, 2008. – 21 с.
121. Турашев, А.Д. Эндотелиальный гликокалекс в функционировании микроциркуляторного русла / А.Д. Турашев, А.В. Максименко // Кардиолог. вестн. – 2009. – № 2. – С. 43-51.
122. Фармакологическая коррекция морфологических изменений экспериментального отморожения / В.А. Лазаренко, Е.Б. Артющкова, В.Н. Мишустин [и др.] // Учен. записки Орл. гос. ун-та. Сер. : Естеств., технич. и мед. науки. – 2013. – № 6. – С. 218-227.
123. Хаитов, Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатьева, И.Г. Сидорович. – М. : Медицина. – 2000. – 432 с.
124. Характеристика гемостаза с позиции энергодифицитных состояний / С.В. Синьков, С.А. Шапошников, Д.С. Величко, И.Б. Заболотских // Куб. научн. мед. вестн. – 2012. – № 3. – С. 143-148.
125. Цыбиков, Н.Н. Мононуклеарные фагоциты – связующее звено между иммуногенезом, гемостазом и фибринолизом / Н.Н. Цыбиков // Успехи физиолог. наук. – 1983. – № 4. – С. 114.
126. Циркулирующие предшественники эндотелиальных клеток и дисфункция сосудистого эндотелия / М.М. Руда, Т.И. Арефьева, М.И. Трипотень [и др.] // Рос. физиолог. журн. – 2009. – Т. 95, № 6. – С. 545-562.
127. Цитокины и клеточный иммунный статус после острого нарушения мозгового кровообращения / С.П. Сергеева, Л.М. Ерофеева, М.М. Гультяев, И.П. Балмасов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2010. – № 3. – С. 27-31.
128. Цитокины и неоптерин при антифосфолипидном синдроме / Е.Н. Александрова, А.А. Новиков, Т.М. Решетняк [и др.] // Науч.-практ. ревматология. – 2009. – № 2. – С. 10-16.

129. Шаповалов, К.Г. Патогенетические механизмы местной холодовой травмы : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.16 / Шаповалов Константин Геннадьевич ; Чит. гос. мед. акад. – Чита, 2009. – 38 с.
130. Шестопалов, А.Е. Особенности нутритивной поддержки при лечении тяжёлой сочетанной травмы / А.Е. Шестопалов, Е.А. Евдокимов, Н.И. Чаус // Мед. алфавит. – 2013. – Т. 4, № 26. – С. 20-25.
131. Шестопалов, А.Е. Растворы аминокислот в парентеральном питании / А.Е. Шестопалов, А.В. Бутров // Рос. мед. журн. – 2003. – № 8. – С. 496-500.
132. Шитикова, А.С. Тромбоцитопатии врождённые и приобретённые / А.С. Шитикова. – СПб., 2008. – 384 с.
133. Шойхет, Я.Н. Дефиниция в учении о синдроме диссеминированного свёртывания крови / Я.Н. Шойхет, А.П. Момот // Пробл. клин. медицины. – 2009. – № 1. – С. 104-109.
134. Accidental cold-related injury leading to hospitalization in northern Sweden: an eight-year retrospective analysis / H. Brändström, G. Johansson, G.G. Giesbrecht [et al.] // Scand. J. Trauma Resusc. Emerg. Med. – 2014. – Vol. 22, № 1. – P. 1-7.
135. Al Balushi, R.M. The clinical role of glutamine supplementation in patients with multiple trauma: a narrative review / R.M. Al Balushi, J. Cohen, M. Banks // Anaesth. Intensive Care. – 2013. – Vol. 41, № 1. – P. 24-34.
136. Allison, S.P. Hospital food as treatment / S.P. Allison // Clin. Nutr. – 2003. – Vol. 22, № 2. – P. 113-114.
137. Amino acid adequacy in pathophysiological states / P.B. Soeters, M.C.G. van de Poll, W.G. van Gemert, C.H. Dejong // J. Nutr. – 2004. – Vol. 134, № 6. – P. 1575-1582.
138. Amputation level after frostbite: role of bone scan. A case report / L. Ezquerro-Herrando, E. Corella-Abenia, J.M. Zamora-Rodríguez [et al.] // Cir. Cir. – 2013. – Vol. 81, № 4. – P. 353-356.
139. Ardawi, M.S.M. Skeletal muscle glutamine production in thermally injured rats / M.S.M. Ardawi // Clin. Sci. – 1988. – Vol. 74, № 2. – P. 165-172.

140. Arford, S. Treatment of frostbite: a cold-induced injury / S. Arford // J. Wound Ostomy Continence Nurs. – 2008. – Vol. 35, № 6. – P. 625-630.
141. Artinian, V. Effects of early enteral feeding on the outcome of critically ill mechanically ventilated medical patients / V. Artinian, H. Krayem, B. DiGiovine // Chest. – 2006. – Vol. 129, № 4. – P. 960-967.
142. Bipath, P. Levels of procalcitonin, C-reactive protein and neopterin in patients with advanced HIV-1 infection / P. Bipath, M. Viljoen, P.F. Levay // S. Afr. J. HIV Med. – 2012. – Vol. 13, № 2. – P. 78-82.
143. Bruins, M.J. Endotoxemia affects organ protein metabolism differently during prolonged feeding in pigs / M.J. Bruins, P.B. Soeters, N.E. Deutz // J. Nutr. – 2000. – Vol. 130, № 12. – P. 3003-3013.
144. Carli, F. Modulation of the catabolic response to surgery / F. Carli, T. Schricker // Nutr. – 2000. – Vol. 16, № 9. – P. 777-780.
145. Cauchy, E. A controlled trial of a prostacyclin and rt-PA in the treatment of severe frostbite / E. Cauchy, B. Cheguillaume, E. Chetaille // N. Engl. J. Med. – 2011. – Vol. 364, № 2. – P. 189-190.
146. Chen, S. ROS-mediated platelet generation: a microenvironment-dependent manner for megakaryocyte proliferation, differentiation, and maturation / S. Chen, Y. Su, J. Wang // Cell Death and Disease. – 2013. – Vol. 4, № 7. – P. e722.
147. Cold exposure injuries to the extremities / A. Golant, R.M. Nord, N. Paksima, M.A. Posner // J. Am. Acad. Orthop. Surg. – 2008. – Vol. 16, № 12. – P. 704-715.
148. Day, M.W. Frostbite / M.W. Day // Nursing. – 2008. – Vol. 38, № 1. – P. 72.
149. Decreased plasma fibronectin leads delayed thrombus growth in injured arterioles / J. Matushkova, A.K. Chauhan, B. Cambien [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2006. – Vol. 26, № 6. – P. 1391-1396.
150. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM consensus conference committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care

- Medicine / R.C Bone, R.A. Balk, F.B. Cerra [et al.] // Chest. – 1992. – Vol. 101, № 6. – P. 1644-1655.
151. Desborough, J.P. The stress response to trauma and surgery / J.P. Desborough // Br. J. Anaesth. – 2000. – Vol. 85, № 1. – P. 109-117.
152. Determination of microcirculatory changes and angiogenesis in a model of frostbite injury in vivo / O. Goertz, S. Baerreiter, A. Ring [et al.] // J. Surg. Res. – 2011. – Vol. 168, № 1. – P. 155-161.
153. Durrer, B. Management von lokalen Kälteschäden in und außerhalb der Praxis / B. Durrer // Ther Umsch. – 2015. – Vol. 72, № 1. – P. 55-57.
154. Dvorak, H.F. Angiogenesis: update 2005 / H.F. Dvorak // J. Thromb. Haemost. – 2005. – Vol. 3, № 8. – P. 1835-1842.
155. Early enteral feeding versus "nil by mouth" after gastrointestinal surgery: systematic review and meta-analysis of controlled trials / S.J. Lewis, M. Egger, P.A. Sylvester, S. Thomas // Bmj. – 2001. – Vol. 323, № 7316. – P. 773-766.
156. Early enteral feeding, compared with parenteral, reduces postoperative septic complications: the result of a meta-analysis / F.A. Moore, D.F. Feliciano, J.R. Andrassy [et al.] // Ann. Surg. – 1991. – Vol. 216, № 2. – P. 172-183.
157. Effect of major burns on early and late activating markers of peripheral blood t lymphocytes / S. Sayed, R. Bakry, M. El-Shazly [et al.] // Annals of burns and fire disasters. – 2012. – Vol. 25, № 1. – P. 17-21.
158. El-Charnoubi, W.G. Correct treatment of frostbite / W.G. El-Charnoubi, C. Bonde, B.F. Alsbjørn // Ugeskr. Laeger. – 2011. – Vol. 173, № 34. – P. 2051-2052.
159. Elenkov, I.J. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance / I.J. Elenkov // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2004. – Vol. 1024, № 1. – P. 138-146.
160. Elevated systemic IL-18 and neopterin levels are associated with posttraumatic complications among patients with multiple injuries / P. Mommsen, M. Frink, H.C. Pape [et al.] // Injury. – 2009. – Vol. 40, № 5. – P. 528-534.
161. Endothelial nitric oxide synthase activation by tumor necrosis factor- α through neutral sphingomyelinase 2, sphingosine kinase 1, and sphingosine 1

- phosphate receptors a novel pathway relevant to the pathophysiology of endothelium / C. De Palma, E. Meacci, C. Perrotta [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – Vol. 26, № 1. – P. 99-105.
162. ESPEN guidelines for nutrition screening 202 / J. Kondrup, S.P. Allison, M. Elia [et al.] // *Clin. Nutr.* 2003. – Vol. 22, № 4. – P. 415-421.
163. ESPEN guidelines on enteral nutrition / L. Valentini, T. Schutz, S. Allison [et al.] // *Clin. Nutr.* – 2006. – Vol. 25, № 2. – P. 175-360.
164. ESPEN guidelines on enteral nutrition: geriatrics / D. Volkert, Y.N. Berner, E. Berry [et al.] // *Clin. Nutr.* – 2006. – Vol. 25, № 2. – P. 330-360.
165. ESPEN guidelines on parenteral nutrition / P. Singer, M.M. Berger, G. Van den Berghe [et al.] // *Clin. Nutr.* – 2009. – Vol. 28, № 4. – P. 387-400.
166. Expression and localization of tissue factor pathway inhibitor-2 in normal and atherosclerotic human vessels / J.T.B. Crawley, D.A. Goulding, V. Ferreira [et al.] // *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* – 2002. – Vol. 22, № 2. – P. 218-224.
167. Fibrinogen synthesis is elevated in fasting cancer patients with an acute phase response / T. Preston, C. Slater, D.C. McMillan [et al.] // *J. Nutr.* – 1998. – Vol. 128, № 8. – P. 1355-1360.
168. Frostbite: a practical approach to hospital management / C. Handford, P. Buxton, K. Russell [et al.] // *Extrem. Physiol. Med.* – 2014. – Vol. 3, № 1. – P. 7.
169. Frostbite of both first digits of the foot treated with delayed hyperbaric oxygen: a case report and review of literature / T.C. Kemper, V.M. de Jong, H.A. Anema [et al.] // *Undersea Hyperb. Med.* – 2014. – Vol. 41, № 1. – P. 65-70.
170. Frostbite: pathogenesis and treatment / J.V. Murphy, P.E. Banwell, A.H.N. Roberts, D.A. McGrouther // *J. Trauma.* – 2000. – Vol. 48, № 4. – P. 171-178.
171. Gross, E.A. Using thrombolytics in frostbite injury / E.A. Gross, J.C. Moore // *J. of Emergencies, Trauma, and Shock.* – 2012. – Vol. 5, № 3. – P. 267.
172. Hutchison, R.L. Frostbite of the hand / R.L. Hutchison // *J. Hand Surg. Am.* – 2014. – Vol. 39, № 9. – P. 1863-1868.

173. Hypothermic injury: the mitochondrial calcium, ATP and ROS love-hate triangle out of balance / P.T. Brinkkoetter, H. Song, R. Lösel [et al.] // *Cell Physiol. Biochem.* – 2008. – Vol. 22, № 1-4. – P. 195-204.
174. Impact of energy deficit calculated by a predictive method on outcome in medical patients requiring prolonged acute mechanical ventilation / C. Faisy, N. Lerolle, F. Dachraoui [et al.] // *Br. J. of Nutr.* – 2009. – Vol. 101, № 7. – P. 1079-1087.
175. Incidences, types, and influencing factors of snow disaster-associated injuries in Ningbo, China, 2008 / G. Xu, Y. Ying, Y. Liu [et al.] // *Disaster Med. Public Health Prep.* – 2012. – Vol. 6, № 4. – P. 363-369.
176. Influence of ISDN, l-NAME and selenium on microcirculation, leukocyte endothelium interaction and angiogenesis after frostbite / O. Goertz, H. Haddad, L. von der Lohe [et al.] // *Burns.* – 2014. – Vol. 41, № 1. – P. 145-152.
177. Ingram, B.J. Recognition and treatment of freezing and nonfreezing cold injuries / B.J. Ingram, T.J. Raymond // *Curr. Sports Med. Rep.* – 2013. – Vol. 12, № 2. – P. 125-130.
178. Introductory to the ESPEN guidelines on enteral nutrition: terminology, definitions and general topics / H. Lochs, S.P. Allison, R. Meier [et al.] // *Clin. Nutr.* – 2006. – Vol. 25, № 2. – P. 180-186.
179. Kato, H. Regulation of functions of vascular wall cells by tissue factor pathway inhibitor basic and clinical aspects / H. Kato // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2002. – Vol. 22, № 4. – C. 539-548.
180. Kim, H. Glutamine as an Immunonutrient / H. Kim // *Yonsei Med. J.* – 2011. – Vol. 52, № 6. – P. 892-897.
181. Leandro-Merhi, V.A. Nutrition status and risk factors associated with length of hospital stay for surgical patients / V.A. Leandro-Merhi, J.L.B. de Aquino, J.F.S. Chagas // *J. Parenteral Enteral Nutr.* – 2011. – Vol. 35, № 2. – P. 241-248.
182. Li, N. Platelet-lymphocyte cross-talk / N. Li // *J. Leukocyte Biol.* – 2008. – Vol. 83, № 5. – P. 1069-1078.

183. Li, N. Platelet-lymphocyte conjugation differs between lymphocyte subpopulations // N. Li, Q. Ji, P. Hjemdahi // *J. Tromb. Haemost.* – 2006. – Vol. 4, № 4. – P. 874-881.
184. Liu, Y.S. The effect of 5-hydroxytryptamine on the regulation of megacaryocytopoiesis / Y.S. Liu, M. Yang // *Hematology.* – 2006. – Vol. 11, № 1. – P. 53-56.
185. Long 3rd, W.B. Cold injuries / W.B. Long 3rd // *J. Long Term. Eff. Med. Implants.* – 2005. – Vol. 15, № 1. – P. 67-78.
186. Ma, A.C. Platelets, neutrophils, and neutrophil extracellular traps (NETs) in sepsis / A.C. Ma, P. Kubes // *J. Thromb. Haemost.* – 2008. – Vol. 6, № 3. – P. 415-420.
187. Mackman, N. Alternatively spliced tissue factor – one cut too many / N. Mackman // *Thrombos. Haemost.-Stutt.* – 2007. – Vol. 97, № 1. – P. 5-8.
188. Managing frostbite / M.J. Hallam, T. Cubison, B. Dheansa, C. Imray // *BMJ.* – 2010. – Vol. 341. – P. 1151–1156.
189. Mebta, D. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability / D. Mebta, A.B. Malik // *Physiol. Rev.* – 2006. – Vol. 86, № 1. – P. 279-367.
190. Metabolic response to injury and sepsis: changes in protein metabolism / G. Biolo, G. Toigo, B. Ciocchi [et al.] // *Nutr.* – 1997. – Vol. 9, № 13. – P. 52-57.
191. Mohr, W.J. Cold injury / W.J. Mohr, K. Jenabzadeh, D.H. Ahrenholz // *Hand Clin.* – 2009. – Vol. 25, № 4. – P. 481-96.
192. Molecular regulation of protein catabolism in trauma patients / A. Bosutti, G. Biolo, G. Toigo [et al.] // *Clin. Nutr.* – 1999. – Vol. 18, № 2. – P. 103-105.
193. Mueller, C. ASPEN clinical guidelines: nutrition screening, assessment and intervention in adults / C. Mueller, C. Compher, D.M. Ellen // *J. Parenteral Enteral Nutr.* – 2011. – Vol. 35, № 1. – P. 16-24.
194. Neopterin as a marker for immune system activation / C. Murr, B. Widner, B. Wirleitner, D. Fuchs // *Curr. Drug Metab.* – 2002. – Vol. 3, № 2. – P. 175-187.

195. Neopterin as prognostic biomarker in intensive care unit patients / T. Baydar, O. Yuksel, T.T. Sahin [et al.] // *J. Critical Care.* – 2009. – Vol. 24, № 3. – P. 318-321.
196. Nutrition for the middle and elderly / editors: N.E. Bernhardt, A.M. Kasko. – Nova Sci. Publishers Inc., 2008. – 495 p.
197. Neopterin: from forgotten biomarker to leading actor in cardiovascular pathophysiology / S. De Rosa, P. Cirillo, M. Pacileo [et al.] // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 9, № 2. – P. 188-99.
198. NF- κ B inhibitors impair platelet activation responses / E. Malaver, M.A. Romaniuk, L.P. D'atri [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol. 7, № 8. – P. 1333-1343.
199. Norman, K. Malnutrition as prognostic factor / K. Norman, H. Lochs, M. Pirlich // *Chirurg. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 20. – P. 175-180.
200. Nutrition support in intensive care unit patients / Y. Tanaka, Y. Sakurai, J.-C. Preiser [et al.] // *Jomyaku Keicho Eiyo.* – 2011. – Vol. 26, № 3. – P. 873-897.
201. Occurrence of frostbite in the general population – work related and individual factors / T.M. Mäkinen, J. Jokelainen, S. Näyhä [et al.] // *Scand. J. Work Environ. Health.* – 2009. – Vol. 35, № 5. – P. 384-393.
202. Petrone, P. Management of accidental hypothermia and cold injury / P. Petrone, J.A. Asensio, C.P. Marini // *Curr. Probl. Surg.* – 2014. – Vol. 51, № 10. – P. 417-431.
203. Pierrakos, C. Sepsis biomarkers: a review [Electronic resource] / C. Pierrakos, J.-L. Vincent // *Critical Care.* – 2010. – Mode of access : <http://ccforum.com/content/14/1/R15>. – 22.08.2015.
204. Pingle, K.S. Neopterin: Biomarker of cellmediated immunity and potent usage as biomarker in silicosis and other occupational diseases / K.S. Pingle, R.G. Tumane, A.A. Jawade // *Indian J. Occup. Environ. Med.* – 2008. – Vol. 12, № 3. – P. 107-111.

205. Plasma glutamine depletion and patient outcome in acute ICU admissions / H.M. Oudemans-van Straaten, R.J. Bosman, M. Treskes [et al.] // *Intensive Care Med.* – 2001. – Vol. 27, № 1. – P. 84-90.
206. Plasma level of neopterin as a marker of disease activity in treated rheumatoid arthritis patients: association with gender, disease activity and anti-CCP antibody / D. Arshadi, B. Nikbin, Y. Shakiba [et al.] // *Int. immunopharmacology.* – 2013. – Vol. 17, № 3. – C. 763-767.
207. Platelet-activating factor synthesis by neutrophils, monocytes, and endothelial cells is modulated by nitric oxide production / F. Mariano, B. Bussolati, M. Migliori [et al.] // *Shock.* – 2003. – Vol. 19, № 4. – P. 339-344.
208. Platelet functions beyond hemostasis / S.S. Smyth, R.P. McEver, A.S. Weyrich [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol. 7, № 11. – P. 1759-1766.
209. Platelets and megakaryocytes contain functional NF- κ B / Sh.L. Spinelli, A.E. Casey, S.J. Pollock [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2010. – Vol. 30, № 3. – P. 591-598.
210. Platelets express functional Toll-like receptor-4 / G. Andonegui, S.M. Kerfoot, K. McNagny [et al.] // *Blood.* – 2005. – Vol. 106, № 7. – P. 21417-21423.
211. Platelets release TPO upon activation / C. Folman, G.E. Linthorst, J. van Mourik [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2000. – Vol. 83, № 6. – P. 923-930.
212. Regulation of TFPI function by protein S / T.M. Hackeng, L.F.A. Maurissen, E. Castoldi, J. Rosing // *J. Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol. 7, № s1. – P. 165-168.
213. Selye, H. *The physiology and pathology of exposure to stress* / H. Selye. – Montreal, 1950. – 822 p.
214. Serum lipids and neopterin in urine as new biomarkers of malnutrition and inflammation in the elderly / D. Hrnčiarikova, R. Hyspler, P. Vyroubal [et al.] // *Nutr.* – 2009. – Vol. 25, № 3. – P. 303-308.

215. Serum neopterin estimation as an indicator for safe blood transfusion / A.S. Shameem Banu, P. Latha, K. Kaveri, S. Jayakumar // *J. Clin. Diagnostic Research*. – 2011. – Vol. 5, № 8. – P. 1555-1558.
216. The role of neopterin in cardiovascular disease / M. Pacileo, P. Cirillo, S. De Rosa [et al.] // *Monaldi Arch. Chest Dis*. – 2007. – Vol. 68, № 2. – P. 68-73.
217. Thrombin / N.R. Goldsack, R.C. Chambers, K. Dabbagh, G.J. Laurent // *Int. J. Biochem. Cell Biol*. – 1998. – Vol. 30, № 6. – P. 641-646.
218. The central role of thrombin in hemostasis / J.T.B. Crawley, S. Zanardelli, C. Chion, D.A. Lane // *J. Tromb. Haemost*. – 2007. – Vol. 5, № s1. – P. 95-101.
219. The lipoprotein-associated coagulation inhibitor that inhibits factor VII-tissue factor complex also inhibits Xa: insight into its possible mechanism of action / G.J.J. Broze, L.A. Warren, W.F. Novotny [et al.] // *Blood*. – 1988. – Vol. 71, № 2. – P. 335-343.
220. Thrombelastography is better than PT, aPTT, and activated clotting time in detecting clinically relevant clotting abnormalities after hypothermia, hemorrhagic shock and resuscitation in pigs / W.Z. Martini, D.S. Cortez, Dubick M.A. [et al.] // *J. Trauma*. – 2008. – Vol. 65, № 3. – P. 535-543.
221. Toll-like receptor 4 ligand can differentially modulate the release of cytokines by human platelets / F. Cognasse, H. Hamzeh-Cognasse, S. Lafarge [et al.] // *Brit. J. Haematol*. – 2008. – Vol. 141, № 1. – P. 84-91.
222. Tomczycowska, B. Evaluation of platelet activation, plasma antithrombin III in hypertensive patients / B. Tomczycowska, J. Baetak, A. Bodys // *Ann. UMCS D*. – 2002. – Vol. 58, № 1. – P. 15-20.
223. Transcriptional inhibition of protease-activated receptor-1 expression by prostacyclin in human vascular smooth muscle cells / R. Pape, B.H. Rauch, A.C. Rostnkranz [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. – 2008. – Vol. 28, № 3. – P. 534-540.
224. Treating frostbite injuries / R.R. Berendsen, N.E. Kolfshoten, V.M. de Jong [et al.] // *Ned. Tijdschr. Geneesk*. – 2012. – Vol. 156, № 25. – P. A4702.

225. Urinary excretion and efflux from the leg of 3-methylhistidine before and after major surgical operation / M.J. Rennie, K. Bennegård, E. Eden [et al.] // *Metab.* – 1984. – Vol. 33, № 3. – P. 250-256.
226. Vaničková, M. The adhesion of blood platelets on fibrinogen surface: comparison of two biochemical microplate assays / M. Vaničková, J. Suttar, J.E. Dyr // *Platelets.* – 2006. – Vol. 17, № 7. – P. 470-476.
227. Wagner, C. Thrombolytic therapy in the acute management of frostbite injuries / C. Wagner, C.J. Pannucci // *Air. Med. J.* – 2011. – Vol. 30, № 1. – P. 39-44.
228. What is subjective global assessment of nutritional status? / A.S. Detsky, J.P. Baker, N. Johnston [et al.] // *J. Parenter. Enteral Nutr.* – 1987. – Vol. 11, № 1. – P. 8-13.
229. Wilderness medical society practice guidelines for the prevention and treatment of frostbite: 2014 update / S.E. McIntosh, M. Opacic, L. Freer [et al.] // *Wilderness Environ Med.* – 2014. – Vol. 25, № 4. – P. S43-S54.
230. Wojciechowska, C. Neopterin and beta-2 microglobulin relations to immunity and inflammatory status in nonischemic dilated cardiomyopathy patients [Electronic resource] / C. Wojciechowska // *Mediators of Inflammation.* – 2014. – Mode of access : <http://dx.doi.org/10.1155/2014/585067>. – 22.08.2015.
231. Yanagisawa, H. Hypothermia, chilblain and frostbite / H. Yanagisawa // *Nihon Rinsho.* – 2013. – Vol. 71, № 6. – P. 1074-1078.
232. Yanchun, L. Significance of humoral neopterin in clinical diagnostics and prognosis / L. Yanchun, H. Zhidong // *J. Med. Colleges of PLA.* – 2011. – Vol. 26, № 1. – P.45-51.
233. Yousif, J. Frostbite on the Hand of a Homeless Man / J. Yousif, P. Saitta, S.K. Grekin // *Am. J. Orthop.* – 2014. – T. 94, № 1. – P. 5-6.
234. Zafren, K. Frostbite: prevention and initial management / K. Zafren // *High. Alt. Med. Biol.* – 2013. – Vol. 14, № 1. – P. 9-12.