

Сравнительная оценка иммунного статуса у доноров крови и пациентов с глубокими отморожениями конечностей

В.И. Шардаков, А.Г. Кардовский, Н.В. Исаева

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства России»

Comparative evaluation of immune status in blood donors and patients with deep limb frostbite

V.I. Shardakov, A.G. Kardovsky, N.V. Isaeva

The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency

Аннотация

Холодовая травма приводит к ослаблению иммунореактивности больного и, как следствие этого, развитию инфекционных осложнений. Остается малоизученным характер иммунных нарушений в зависимости от сроков госпитализации и начала оказания комплексной медицинской помощи.

Цель работы: оценка показателей иммунного статуса здоровых людей-доноров крови и пациентов с глубокими отморожениями конечностей.

Методы: обследовали состояние клеточного, гуморального и врожденного звеньев иммунитета у 120 здоровых людей-доноров крови (группа сравнения) и 37 пострадавших с холодовой травмой. Пациенты были поделены на 2 группы: 19 больных (1 группа), поступивших в стационар в первые часы после травмы, и 18 человек (2 группа) – с поздней госпитализацией (двое и более суток после отморожения).

Полученные результаты: у больных обеих групп наблюдалось снижение числа CD19⁺-лимфоцитов, стойкий (весь период наблюдений) дефект фагоцитарной функции нейтрофилов (53,0±2,7% против 74,5±2,10% в группе сравнения), а также ослабление активности β-лизинов. В зависимости от сроков начала оказания медицинской помощи прослеживалась тенденция корреляционной зависимости величины лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (I группа – 19,1±4,3%, а II группа – 11,6±3,2%).

Выводы: в первые сутки после местной холодовой травмы формировался дефект гуморального и врожденного звеньев иммунитета.

Ключевые слова

Холодовая травма, иммунный статус, лимфоциты, лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия.

Summary

Cold trauma leads to a weakening of the patient's immunoreactivity and as a consequence, the development of infectious complications. The nature of immune disorders, depending on the time of hospitalization and the beginning of comprehensive medical care, remains poorly understood.

Aim: to assess the immune status of healthy people: blood donors and patients with deep frostbite limbs.

Methods: features of cellular, humoral and innate immunity were examined in 120 healthy people: blood donors (comparison group) and 37 patients with cold trauma. Patients were divided into 2 groups: 19 patients (group I), who were admitted to the hospital in the first hours after the injury, and 18 people (group II) – with late hospitalization (two or more days after frostbite).

Results: in patients of both groups there was a decrease in the number of CD19⁺-lymphocytes, persistent (present for the entire period of observation) weakening of the phagocytic function of neutrophils (53,0±2,70% vs.74,5±2,10% in the comparison group) and well as reduction of the activity of β – lysine. The correlation of lymphocyte-platelet adhesion index was traced depending on the timing of the start of treatment.

Conclusion: in the first day after the cold injury the defect of humoral and innate immunity was formed.

Keywords

Cold injury, immune status, lymphocytes, lymphocyte-platelet adhesion.

Введение

Острая холодовая травма является мощным стрессом, запускающим весь комплекс защитных механизмов организма. В условиях стресса наблюдается резкое повышение продукции кортикостероидов, которые подавляют функции иммунной системы (в частности, клеточный иммунитет, фагоцитоз). В ответ на стресс меняется баланс цитокинов с заметным увеличением доли провоспалительных клеточных регуляторов [1], что также приводит к нарушению нормального иммуногенеза. Течение глубокой холодовой травмы, как правило, сопровождается развитием инфекционно-воспалительных осложнений [2, 3], поэтому важной, на наш взгляд, является оценка состояния иммунной системы, играющей основную роль в противоинфекционной защите.

В последние годы получены новые данные о функционировании этой системы и её участии в блокировании инфекций у лиц с холодовой травмой. Так, по мнению Б.И. Кузника и соавт. [4], при различных патологических процессах, приводящих к развитию вторичной иммунной недостаточности, симптомокомплекс не ограничивается лишь угнетением составных звеньев иммунитета - клеточных, гуморальных и врожденных факторов защиты, а страдают в дополнение к этому сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, механизмы свертывания крови и фибринолиза. Авторы отмечают, что при холодовой травме претерпевает изменения также эндотелий сосудов с нарушением иммунных реакций, происходящих на тканевом уровне [5]. В частности, при глубоких отморожениях конечностей неизбежно происходит как анатомическое, так и функциональное поражение эндотелия сосудов, вызывающее нарушение местного кровообращения и все последующие изменения в пораженных тканях с ослаблением локальной иммунорезистентности. К сожалению, в литературе не представлено данных, отражающих состояние иммунитета в зависимости от сроков поступления больных в специализированное медицинское учреждение, хотя частота инфекционных осложнений, как указывают авторы, напрямую зависит от раннего адекватного лечения [6].

В предыдущих наших исследованиях выявлены нарушения некоторых звеньев иммунной системы у пострадавших с глубокой местной холодовой травмой уже в раннем реактивном периоде процесса отморожения [7]. Однако дальнейшее восстановление иммунореактивности у пациентов в позднем реактивном периоде, а также и в последующие сроки наблюдения изучены,

на наш взгляд, недостаточно. Группу сравнения составили практически здоровые лица-доноры крови, у которых исследованы показатели иммунитета, причем прослежена иммунореактивность доноров, в частности, состояние факторов врожденного иммунитета в динамике - на протяжении последних двадцати лет.

Цель работы. Сравнительная оценка показателей иммунного статуса у здоровых людей - доноров крови и пациентов с глубокими отморожениями конечностей в динамике холодовой травмы.

Материал и методы исследований

Проведено обследование иммунного статуса 120 здоровых людей - доноров крови КНИИ-ГиПК: женщин - 58, а мужчин - 62 человека. Медиана возраста обследованных составила 37 лет. Мужчин в возрасте до 45 лет - 40 человек, старше 45 лет - 22; женщин до 45 лет обследовано 38, старше 45 лет - 20. В динамике холодовой травмы проанализировали показатели иммунного статуса 37 больных с глубокими отморожениями конечностей, которые были разделены на 2 группы. Первую группу составили 19 пациентов, поступивших в стационар в дореактивном и в первые часы раннего реактивного периода. Во вторую группу включены 18 человек с поздней госпитализацией в специализированное медицинское учреждение (через 2-3 суток после получения местной холодовой травмы).

Показатели иммунитета у всех пострадавших исследовали методом проточной цитофлюорометрии на приборе FACS Canto II: определяли содержание в периферической крови CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+, CD56+, CD3+HLA-DR⁺-лимфоцитов с помощью моноклональных антител (BD Biosciences, США). Уровень иммуноглобулинов G, A, M изучали методом иммуноферментного анализа с применением наборов «Иммуноскрин - ИФА-Бест». Среди факторов врожденного иммунитета оценивали фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) и фагоцитарный индекс (ФИ) в латекс-тесте, а также их бактерицидную функцию в тесте восстановления нитросинего татразолия (НСТ-тест). Концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли в преципитации с раствором полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 [8,9]. Исследования активности теста лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) проводили по методу Ю.А.Витковского и соавт. (2006) [10] в нашей модификации, которая заключалась в следующем: свежую гепаринизированную кровь

обследуемых лиц (1 пробирка) наслаивали на градиент фиколл-верографина (плотность-1,077), центрифугировали в течение 30 мин. при 1500 об/мин. Из интерфазного кольца собирали клеточную взвесь (лимфоциты + тромбоциты). Одну ее часть центрифугировали при 1000 об/мин в течение 3 мин и делали мазок (спонтанный тест ЛТА). Из другой части клеточной взвеси выделяли лимфоциты, отмывали их раствором Хенкса при 1000 об/мин в течение 10 минут. Вторая пробирка с гепаринизированной кровью отстаивалась при t 20°C 30 мин. К 1 мл супернатанта, богатого тромбоцитами, добавляли 2 мл отмытых лимфоцитов в концентрации 2×10^6 /мл, инкубировали 30 мин. при t 37°C и делали мазок (тест с отмытыми лимфоцитами). Затем производили окраску мазков по Лейшману и подсчет 200 лимфоцитов. Адгезия тромбоцитов с лимфоцитом считалась положительной при фиксации на поверхности от 3 и более кровяных пластинок. При статистическом анализе результатов исследований использовали методы сравнения выборок (U-критерий Манна-Уитни). Для расчета результатов использовали пакеты программ MS Office Excel 2003 STATISTICA V.13. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Проведена сравнительная оценка иммунологических показателей доноров (в частности, факторов врожденного иммунитета) за последние два десятилетия (таблица 1).

Как видно из приведенной таблицы, микробицидная функция нейтрофильных гранулоцитов у жителей Кировской области оставалась на протяжении последних лет практически неизменной, в то же время процент фагоцитирующих нейтрофилов несколько снижался.

Важным, на наш взгляд, являлась оценка экспрессии рецепторов на лимфоидных клетках у доноров в зависимости от их возраста и пола, для чего использовался тест лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. Известно, что лимфоциты способны к спонтанному образованию коагрегатов с тромбоцитами. По данным литературы, ЛТА является физиологической реакцией, и в норме число коагрегатов у здоровых людей составляет в среднем $14 \pm 1\%$ [10]. Считается, что способностью взаимодействовать с тромбоцитами преимущественно обладают Т-лимфоциты, несущие маркеры CD3+CD4+ (Т-хелперы) и CD16+ (натуральные киллеры). Можно предположить, что активность ЛТА зависит от 2 факторов:

функционального состояния кровяных пластинок, а также состояния рецепторов на указанных иммунокомпетентных клетках (ИКК). Исходя из изложенного, тест лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии является дополнительным информативным показателем, позволяющим косвенно оценивать функциональное состояние систем гемостаза и иммунитета у доноров. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Из приведенных в таблице данных видно, что у доноров в возрастной группе до 45 лет показатели теста ЛТА оказались выше, чем полученные значения в более старшей группе. Возможно, что наша модернизация метода привела к некоторым отличиям результатов исследований тромбоцитарной адгезии при сравнении с данными других авторов [12], которые в общем пуле лимфоцитов у здоровых людей выявили $14,0 \pm 1,0\%$ позитивных в адгезивном тесте клеток. К сожалению, авторы не приводят возрастные колебания этого показателя, характерные для своего региона (Читинская область). В нашей работе, с учетом возраста доноров, отличия показателей ЛТА наблюдались не только в спонтанном тесте, но и в варианте с отмытыми ИКК. Более высокие значения ЛТА при отмывании лимфоцитов связаны, на наш взгляд, с тем, что на этих клетках наблюдается восстановление части адгезивных молекул, заблокированных в иммунных процессах, а состояние этих молекул — основа феномена ЛТА.

Исследования также показали, что существуют гендерные различия показателей ЛТА, особенно в группе доноров — женщин до 45 лет при сопоставлении с данными их более старшей возрастной группы.

Следовательно, при динамическом обследовании иммунной системы доноров установлено снижение фагоцитарной функции нейтрофильных гранулоцитов, являющихся составной частью врожденного иммунитета. Одним из дополнительных критериев оценки состояния здоровья донорских кадров может служить тест ЛТА, который характеризует с одной стороны функциональное состояние клеток иммунной системы, с другой — тромбоцитарное звено гемостаза.

Показатели иммунореактивности группы доноров были использованы для сравнительной оценки состояния иммунной системы у пострадавших с глубокими отморожениями конечностей, с учетом времени их госпитализации (таблица 3).

При анализе полученных данных видно, что у больных обеих групп при поступлении в ста-

Таблица 1. Сравнительная оценка показателей функциональной активности нейтрофилов у доноров (M±m)

Исследуемые показатели	2000 год, n=100*	2019 год, n=120	p
ФАН, %	79,0±1,32	74,5±2,10	p<0,05
ФИ, ед.	10,6±0,37	12,2±0,70	p<0,05
НСТ-тест:			
- спонтанный, %	12,2±1,22	12,4±0,92	p<0,05
- стимулированный, %	31,0±3,40	27,3±1,56	p<0,05
- индекс стимуляции	2,5±0,21	2,2±0,10	p<0,05

Примечание. * - ранее опубликованные данные [11]

Таблица 2. Характеристика показателей лимфоцитарно-тромбоцитарной агрегации у доноров в зависимости от возраста и пола (M±m)

доноры	возраст	Количество наблюдений	Спонтанная агрегация, %	Отмытые лимфоциты, %
	до 45 лет	78	11,0±0,46	17,6±0,56
	старше 45 лет	42	7,8±0,55*	13,6±0,80*
женщины	до 45 лет	38	10,7±0,57	16,4±0,75
	старше 45 лет	20	7,8±0,81*	14,0±1,2
мужчины	до 45 лет	40	11,7±0,71	18,3±0,86
	старше 45 лет	22	8,6±0,89	13,6±1,11*

Примечание: * - достоверность различий показателей между сравниваемыми группами

Таблица 3. Характеристика показателей иммунитета у больных с глубокими отморожениями конечностей (M±m)

Показатель	Группы больных	При поступлении	При выписке	Группа сравнения
Лейкоциты, x10 ⁹ /л	Первая	14,5±0,91**	8,1±0,40*	5,7±1,22
	Вторая	12,8±0,75**	8,2±0,50*	
Лимфоциты, %	Первая	18,0±1,30 **	30,0±1,50*	32,5±2,48
	Вторая	17,0±1,50 **	30,0±1,30*	
CD 3+, %	Первая	77,7±1,40	74,9±1,62	78,5±2,76
	Вторая	74,9±1,61	72,9±1,96	
CD 19+, %	Первая	7,8±0,82**	7,6±0,45**	10,2±0,42
	Вторая	8,2±0,86**	6,0±0,41	
CD3+HLA-DR+, %	Первая	3,1±0,72	2,4±0,36	1,4±0,20
	Вторая	1,8±0,27	2,9±0,66	
CD 16+, %	Первая	12,7±1,03**	14,9±1,43**	24,4±3,26
	Вторая	14,2±1,16**	17,9±2,01	
CD 56+, %	Первая	8,6±0,93**	8,5±0,81**	0,41±0,07
	Вторая	7,2±1,04**	10,0±1,47**	
CD 4+, %	Первая	47,2±1,30	44,0±1,30	39,5±1,70
	Вторая	43,2±1,52	42,9±1,93	
CD 8+, %	Первая	28,3±1,24	27,2±1,14	26,3±1,44
	Вторая	27,6±1,56	26,1±1,44	
CD4/ CD8	Первая	1,9±0,13	1,8±0,10	1,8±0,06
	Вторая	1,8±0,12	1,9±0,14	

Примечание: * – достоверность различий по сравнению с исходными показателями;

** – достоверность различий по отношению к группе сравнения.

ционар наблюдался выраженный лейкоцитоз. В то же время выявлено снижение относительного количества лимфоцитов с постепенной нормализацией показателей в процессе наблюдения.

При местной холодовой травме статистически значимых изменений содержания CD3⁺-клеток не наблюдалось, тогда как количество CD19⁺-лимфоцитов в обеих группах больных было ниже

данных группы сравнения, причем эти показатели имели тенденцию к снижению вплоть до выписки пациентов из стационара.

Следует отметить, что низкие величины процентного содержания натуральных киллерных клеток с маркерами CD16+ имели тенденцию их количественного роста к окончанию периода наблюдения.

Изменения показателей концентрации иммуноглобулинов у наблюдаемых больных представлены в таблице 4.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что прослеживалась тенденция к повышению уровней иммуноглобулинов классов G и A в обеих группах пациентов, причем с нарастанием их концентрации к окончанию сроков наблюдения, в том числе и иммуноглобулина M, что можно было рассматривать как защитную реакцию организма на инфекционно-воспалительные процессы в тканях, подвергнутых холодовому воздействию.

Выраженные изменения затрагивали и состояние факторов врожденного иммунитета

пострадавших с глубокими отморожениями конечностей, что видно из таблицы 5.

Выявлено стойкое снижение показателей, характеризующих фагоцитарную функцию нейтрофилов, причем низкая активность клеток прослеживалась на всем протяжении наблюдения за больными. Можно согласиться с теми авторами, которые связывают ослабление фагоцитарной функции лейкоцитов при холодовой травме с действием провоспалительных цитокинов (в частности, TNF- α), способствующих выбросу функционально незрелых клеток [1]. В работе не выявлено ослабления их микробицидной функции: показатели НСТ теста имели тенденцию к росту, что, скорее всего, связано с развитием инфекционно-воспалительных процессов, обусловленных, как отмечают авторы, некробиотическими изменениями пораженных тканей [13]. Можно отметить также ослабление активности при холодовой травме β -лизинов.

Проведено исследование функционального состояния ИКК у лиц с холодовой травмой в тесте ЛТА. Найдено, что в зависимости от сроков

Таблица 4. Характеристика уровней иммуноглобулинов у больных с глубокими отморожениями конечностей (M \pm m)

Имуноглобулин	Группы больных	При поступлении	При выписке	Группа сравнения
- G, г/л	Первая	15,1 \pm 0,89	19,2 \pm 1,41*	13,0 \pm 0,54
	Вторая	13,4 \pm 1,11	18,2 \pm 1,10*	
- A, г/л	Первая	3,1 \pm 0,21	3,5 \pm 0,25	2,0 \pm 0,18
	Вторая	3,4 \pm 0,25	3,7 \pm 0,24	
- M, г/л	Первая	1,6 \pm 0,13	1,8 \pm 0,15	1,9 \pm 0,14
	Вторая	1,9 \pm 0,18	2,2 \pm 0,22**	

Примечание: * – достоверность различий по сравнению с исходными показателями; ** – достоверность различий по отношению к группе сравнения.

Таблица 5. Показатели факторов врожденного иммунитета у больных с глубокими отморожениями конечностей (M \pm m)

Показатель	Группы больных	При поступлении	При выписке	Группа сравнения
ФАН, %	Первая	53,0 \pm 2,70	55,0 \pm 3,0**	74,5 \pm 2,10
	Вторая	53,0 \pm 3,10	52,0 \pm 2,60**	
ФИ, ед	Первая	8,1 \pm 0,32	8,2 \pm 0,22**	12,2 \pm 0,70
	Вторая	8,3 \pm 0,27	7,6 \pm 0,20**	
НСТ-тест, спонтанный %	Первая	16,0 \pm 1,60	17,0 \pm 1,60	12,4 \pm 0,90
	Вторая	15,0 \pm 1,60	13,0 \pm 1,30	
ЦИК, ед.опт.пл.	Первая	0,087 \pm 0,006	0,096 \pm 0,006*	0,241 \pm 0,017
	Вторая	0,087 \pm 0,007	0,103 \pm 0,008	
β -лизины, %	Первая	26,0 \pm 1,20**	28,0 \pm 1,50	33,7 \pm 0,54
	Вторая	29,0 \pm 1,30	30,0 \pm 1,50	
Лизоцим, мкг/мл	Первая	7,3 \pm 0,39	7,4 \pm 0,28	6,5 \pm 0,08
	Вторая	7,9 \pm 0,28	7,8 \pm 0,30	

Примечание: * – достоверность различий по сравнению с исходными показателями; ** – достоверность различий по отношению к группе сравнения.

поступления больных в стационар наблюдались отличия показателей этого теста. Так, в I группе пациентов при поступлении величина адгезии в спонтанном тесте равнялась $19,1 \pm 4,3\%$, а с отмытыми лимфоцитами этот показатель составил $11,2 \pm 2,0\%$ (при выписке: $26,9 \pm 5,0\%$ и $17,9 \pm 3,0\%$ соответственно). У больных II группы (позднее поступление и наличие выраженного реактивного периода) функциональная активность изучаемых клеток оказалась значимо ниже: при поступлении – $11,6 \pm 3,2\%$ (спонтанный тест ЛТА) и $9,2 \pm 1,1\%$ (отмытые клетки); при выписке – $16,0 \pm 2,8\%$ и $12,6 \pm 3,6\%$ соответственно. Полученные данные показали, что в тесте ЛТА можно проследить динамику восстановления функциональной активности ИКК в периоде наблюдения. Оценка величины адгезии у пациентов с холодовой травмой является, на наш взгляд, информативным фактором, поскольку величина адгезии во многом зависела от сроков оказания медицинской помощи пострадавшим и эффективности репаративных процессов при холодовой травме.

Литература

1. Сизоненко В.А., Витковский Ю.А., Шаповалов К.Г. и соавт. Изменения в иммунной системе при холодовой травме. Вестник российской военно-медицинской академии. 2010; №1: 111-112.
2. Алексеев А.А., Кудзоев О.А. Особенности хирургического лечения глубоких отморожений при осложненном течении раневого процесса. Материалы тезисов научной конференции «Холодовая травма». СПб, 2002; 6-8.
3. Крылов К.М., Козулин Д.А., Немченко Д.В. Холодовая травма: проблемы и вариант решения. Материалы тезисов научной конференции «Холодовая травма». СПб, 2002; 47-48.
4. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Единая клеточно-гуморальная система защиты организма. Тромбоз, гемостаз и реология. 2005; №5: 3 – 16.
5. Шаповалов К.Г., Витковский Ю.А., Сизоненко В.А. и соавт. Функциональное состояние эндотелия сосудов в патогенезе местной холодовой травмы. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2010; №1: 142 – 143.
6. Алексеев Р.З., Томский М.И., Гольдерова А.С. и соавт. Предупреждение развития некроза при отморожениях с оледенением тканей. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015; №8: 35-41.

Сведения об авторах:

Шардаков Виктор Иванович – доктор медицинских наук, профессор; ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной иммунологии ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России». Эл. почта: vic-shardakov@mail.ru. Тел. (8332) 54-21-64.

Кардовский Александр Георгиевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России».

Исаева Наталья Васильевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной иммунологии ФМБА «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России».

Заключение

Таким образом, проведенные исследования состояния иммунитета у здоровых людей, участвующих в донациях, выявили у них некоторые колебания показателей, характеризующих функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов. По сравнению с данными группы сравнения у больных с глубокими отморожениями конечностей уже в раннем реактивном периоде холодовой травмы наблюдались признаки вторичной иммунной недостаточности с преимущественным дефектом гуморального иммунитета, ослаблением фагоцитарной функции нейтрофилов и относительной лимфоцитопенией. В зависимости от сроков поступления в стационар и начала оказания специализированной медицинской помощи больным с глубокой холодовой травмой функциональное состояние ИКК в тесте ЛТА имело свои отличия. Изучение динамики состояния иммунитета показало, что лабораторные признаки иммунодефицита сохранялись, а некоторые из них усугублялись в позднем реактивном периоде и в дальнейшие сроки наблюдения.

7. Кардовский А.Г., Зайцева Г.А., Градобоева Т.Г. и соавт. Иммунный статус у больных с глубокими отморожениями конечностей. Трансфузиология. 2011; №2: 68.

8. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. и соавт. Оценка иммунной системы при массовых обследованиях: Методические рекомендации для научных сотрудников и врачей практического здравоохранения. Иммунология. 1992; №6: 51-62.

9. Новиков Д.К. Медицинская иммунология: учебное пособие. Мн.: Выш.шк. 2005; 301с.

10. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. Медицинская иммунология. 2006; №5: 745-753.

11. Шардаков В.И., Назарова Е.Л., Загоскина Т.П. Эффективность иммунокоррекции при онкогематологических заболеваниях. Пермский медицинский журнал. 2000; №1: 19-23.

12. Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Витковский Ю.А. Лимфоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия у больных с холодовой травмой. Забайкальский медицинский вестник. 2006; №2: 19-21.

13. Hassi I., Lehmuskallio E., Iuhani I. et al. Frostbite and other problems of skin exposure to cold. Diodecin. 2005; 121: 4:454-461.