ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

Медведев Алексей Игоревич

ПРИМЕНЕНИЕ ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ В СОЧЕТАНИИ С УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАВИТАЦИЕЙ В ЛЕЧЕНИИ ДЕТЕЙ С ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ.

14.00.36 – Аллергология и иммунология
14.00.35 – Детская хирургия
Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук
Снимщикова И.А.
Заслуженный деятель
Науки РФ, доктор медицинских наук,
профессор Затолокин В.Д.

Орел -2004

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 6

ГЛАВА 1. Обзор литературы 11

1.1.Роль иммунологических механизмов в патогенезе гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей. 11

1.2. Современные методы лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей у детей. 21

ГЛАВА 2. Материалы и методы. 36

2.1. Клиническая характеристика больных. 36

2.2. Методы лабораторного исследования больных 40

2.4. Методы экспериментальных исследований 44

2.5. Способ локальной иммунокоррекции в сочетании с ультразвуковой кавитацией. 45

2.6. Методы статистической обработки. 50

ГЛАВА 3. Изучение иммуномодулирующего действия препаратов регуляторных пептидов. 51

3.1. Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на экспрессию мембранных рецепторов нейтрофилов. 51

3.2. Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на продукцию цитокинов нейтрофилами. 58

ГЛАВА 4. Клиническая эффективность применения локальной иммунокоррекции в сочетании с ультразвуковой кавитацией у детей с ГВЗ мягких тканей. 65

ГЛАВА 5. Влияние локальной иммунокоррекции и ультразвуковой кавитации на показатели иммунного статуса подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей. 88

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 100

ВЫВОДЫ 112
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 114

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГВЗ	Гнойно-воспалительные заболевания
ГК-КСФ	Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ДВС	Диссеминированного внутрисосудистого свертывания
ЕКПЦ	Естественный комплекс природных цитокинов
ИКК	Иммунокомпетентные клетки
ИЛ	Интерлейкин
ИФА	Иммуноферментный анализ
КЛ	Клетки Лангерганса
ЛИ	Локальная иммунокоррекция
ЛФ	Лимфоциты
МИФ	Фактор, ингибирующий миграцию макрофагов
МП	миелопероксидаза
МФ	Макрофаги
НГ	Нейтрофильные гранулоциты
НФ	Нейтрофилы
ОРВИ	Острая респираторная вирусная инфекция
ОРЗ	Острое респираторное заболевание
рИФ	Рекомбинантный интерферон
СОЭ	Скорость оседания эритроцитов
ТФР	Трансформирующий фактор роста
Тх	Т-хелпер
УЗИ	Ультразвуковое исследование
УЗК	Ультразвуковая кавитация
УФО	Ультрафиолетовое облучение
ФГА	Фитогемагглютинин

ФНО	Фактор некроза опухолей
ЦИК	Циркулирующие иммунные комплексы
ЦК	Цитокин
Ig	Иммуноглобулин
NK	Натуральные киллеры

ВВЕДЕНИЕ

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Гнойно-воспалительные заболевания различной локализации до настоящего времени остаются одной из актуальных проблем современной медицины, что обусловлено их распространенностью, тенденцией к хроническому и рецидивирующему течению, недостаточной эффективностью традиционных методов лечения (7, 5, 131, 132, 164, 208).

В структуре хирургической патологии у детей гнойно-воспалительные заболевания (ГВЗ) мягких тканей составляют от 15 до 32% (7, 47,45, 191, 165, 217).

Результаты лечения ГВЗ мягких тканей, несмотря на применение современных методов и достигнутые определенные успехи, не удовлетворяют полностью детских хирургов (48, 123, 115, 134, 165, 217). Длительное лечение, значительные материальные затраты, частые осложнения, косметические изъяны – это все требует изыскания новых путей, совершенствования уже имеющихся способов терапии данной группы больных.

Течение и исход ГВЗ мягких тканей в значительной степени зависит от состояния иммунологической реактивности организма (12, 55, 25, 119, 143, 13, 214). Исследованиями последних лет показано, что нарушение сложной сети медиаторных взаимодействий, сопровождающихся накоплением в крови провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ФНО-α , ИЛ-6, ИЛ-8 и др.), играет существенную роль в патогенезе воспалительных и регенераторных процессов в тканях (61, 78, 150, 158, 225).

Использование эндогенных регуляторных пептидов (цитокинов, миелопептидов и др.), в т.ч., их локальное применение является новым перспективным направлением терапии гнойно-воспалительных заболеваний различной локализации. Локальный способ введения препаратов в очаг воспаления обеспечивает создание их высокой концентрации в зоне повреждения, запуск каскадной активации клеток-эффекторов, участвующих в воспалительных и репаративных процессах (76, 181, 138, 80).

В связи с этим приобретает актуальность разработка комплексного патогенетически обоснованного подхода к терапии ГВЗ мягких тканей с включением в программы хирургического лечения локальной иммунокоррекции.

ЦЕЛЬЮ РАБОТЫ явилось повышение эффективности лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей у подростков путем разработки и оценки клинической эффективности способа локального применения препаратов иммунорегуляторных пептидов в сочетании с низкочастотной ультразвуковой кавитацией.

ЗАДАЧИ:

1. Изучить in vitro влияние препаратов иммунорегуляторных пептидов (Миелопид и Суперлимф) на функциональную активность нейтрофилов здоровых детей и подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.
2. Разработать комплексный способ лечения, включающий локальную иммунокоррекцию препаратами иммунорегуляторных пептидов и низкочастотную ультразвуковую кавитацию, при гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей и оценить его клиническую эффективность в сравнении с традиционными методами и ультразвуковой кавитацией.
3. Исследовать динамику течения раневого процесса у подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей на фоне применения локальной иммунокоррекции в сочетании с ультразвуковой кавитацией.

4. Изучить влияние локального применения препаратов иммунорегуляторных пептидов и низкочастотной ультразвуковой кавитации на показатели иммунного статуса подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА. Установлено in vitro иммуномодулирующее влияние препаратов Миелопид и Суперлимф на функциональную активность нейтрофилов периферической крови и очага воспаления при ГВЗ мягких тканей у подростков.

Впервые разработан и внедрен в клиническую практику способ лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей с использованием локальной иммунокоррекции и низкочастотной ультразвуковой кавитации; проведена оценка его клинической эффективности в комплексном лечении подростков в сравнении с традиционной терапией и ультразвуковой кавитацией.

Выявлено положительное влияние локальной иммунокоррекции в сочетании с ультразвуковой кавитацией на динамику течения раневого процесса у подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

Установлена значимость показателей иммунного статуса в развитии и течение воспалительного процесса, а также оценке эффективности лечения подростков с ГВЗ мягких тканей.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ. Разработаны критерии оценки активности локального воспалительного процесса и определена их значимость при проведении локальной иммунокоррекции и ультразвуковой кавитации у подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

В клиническую практику детской хирургии внедрен эффективный способ лечения ГВЗ мягких тканей (локальная иммунокоррекция препаратами Суперлимф и Миелопид в сочетании с низкочастотной ультразвуковой кавитацией), позволяющий сократить сроки лечения с 9-11 до 6-7 суток, предотвратить развитие рецидивов.

ПОЛОЖЕНИЯ ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ.

Препараты Миелопид и Суперлимф in vitro оказывают иммуномодулирующее влияние на функциональную активность нейтрофилов здоровых детей и подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

Локальная иммунокоррекция в сочетании с низкочастотной ультразвуковой кавитацией является эффективным способом лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей у подростков, способствующим быстрому и стойкому купированию местного воспалительного процесса, сокращению сроков лечения и предотвращению рецидивов.

Локальное применение Миелопида или Суперлимфа и ультразвуковой кавитации у подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей приводит к восстановлению нарушенных показателей иммунного статуса.

ВНЕДРЕНИЯ. Метод ЛИ и УЗК внедрен в практику работы Детской областной больницы г. Орла, Детской городской клинической больницы №2 г. Курска.

Полученные результаты используются в учебном процессе кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин МИ ОГУ, общей хирургии и анестезиологии МИ ОГУ, педиатрии, акушерства и гинекологии МИ ОГУ, курса детской хирургии кафедры хирургических болезней №2 КГМУ.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Основные положения работы доложены и обсуждены на II Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии, экспериментальной и клинической медицины» (Орел, 2001), Всероссийской научно-практической конференции «Здоровье в 21 веке» (Москва-Тула, 2002), «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (2003), итоговой научной конференции «Неделя науки ОГУ» – 2002, 2003.

ПУБЛИКАЦИИ. По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, из них 14 - в центральной и 2 - в местной печати, в которых содержится полный объем информации, отражающей основные положения диссертации.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ. Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста, иллюстрирована 24 рисунками, 17 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных данных (3 главы), заключения, выводов, практических рекомендаций, а также библиографического указателя, включающего 184 отечественных и 89 зарубежных источников.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

1.1. Роль иммунологических механизмов в патогенезе гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей.

Известно, что гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей развиваются в условиях иммунодепрессии различной природы и при несостоятельности противоинфекционного иммунитета (140, 167, 72, 193, 143, 174, 13, 248).

Антимикробную защиту организма обеспечивают гистологические барьеры, а также гуморальные и клеточные факторы иммунитета (178, 46, 26, 120, 56, 20, 79, 211, 250, 186)

Одними из важнейших неспецифических факторов резистентности барьерных тканей являются особенности их строения, метаболизма и функционирования, которые затрудняют колонизацию покрова патогенными и условно-патогенными микробами. Колонизация, как один из важнейших начальных этапов развития инфекции, заключается в фиксации микробов на соответствующих рецепторах клеток с последующим размножением возбудителя, заселением покрова и проникновения во внутреннюю среду организма (87, 89, 69).

Среди бактериальных агентов в развитии ГВЗ мягких тканей у детей важную роль играет Staphylococcus aureus, который не является составной частью нормальной микрофлоры кожи, но высевается из носовых ходов примерно у 30% здоровых людей и в 5-15% со сгибательных поверхностей кожи (165, 7, 97, 128, 191, 211). Нередко в очагах поражения обнаруживается ассоциация стафилококка и стрептококка. Другие исследователи указывают на высокую частоту высеваемости грамотрицательных бактерий, принадлежащих к семейству Enterobacteriacea (170, 146).

Присутствие нормальной микрофлоры и образующихся в коже гуморальных неспецифических факторов, обеспечивающих кислую среду, как правило, достаточно для предотвращения инфицирования мягких тканей. Однако, массивная антигенная нагрузка, более 100 тыс. микроорганизмов на 1 г ткани, может опережать возможности защитных сил организма по локализации патологического процесса и способствовать его генерализации (160, 171).

В последние годы изменились представления о роли кожи в модуляции иммунных ответов (178, 26, 120, 175, 13, 186, 217). Показано, что кожа, как иммунный орган, способна к изоляции, процессингу и презентации антигенов с развитием локального иммунного ответа. В коже содержатся лимфоциты, дендритные клетки, макрофаги, гранулоциты, кератиноциты, фибробласты и др., которые при развитии в ней различных гнойно-воспалительных процессов, обеспечивают необходимые защитные функции (фагоцитоз и элиминацию антигенного материала, выработку цитокинов и иммуноглобулинов различных классов) (150, 109, 20, 219). Центральное место в реализации этих функций принадлежит лимфоидной ткани кожи, представленной популяцией рециркулирующих лимфоцитов, большая часть из которых мигрирует в дерму из периферических лимфатических узлов. В здоровой коже большая часть лимфоцитов располагается вокруг посткапиллярных венул поверхностного сосудистого сплетения и придатков кожи. Количественные соотношения и локализация клеток основных иммунорегуляторных популяций в коже, по данным Bos J. D. Et al. (1987), подвержены значительным индивидуальным колебаниям. Однако, по приблизительным оценкам, Т - лимфоциты составляют около 90% всех лимфоцитов, присутствующих в коже, и располагаются преимущественно в верхних слоях дермы (158, 97, 176, 204). В средних и глубоких слоях дермы в незначительном количестве встречаются В – лимфоциты. Среди Т

– клеток кожи обнаружены CD1+, CD2+, CD3+, CD4+, CD8+ субпопуляции лимфоцитов. Кроме того, часть Т- лимфоцитов обладает фенотипом клеток памяти (CD45RO+ - клетки), способных возвращаться в те ткани, где были первоначально стимулированы. Вместе с тем, лимфоидные клетки кожи имеют специфический антиген (CLA – cutaneus lymphocyte antigen), определяющий их хоминг и позволяющий участвовать в формировании локальных воспалительных реакций кожи (150, 226).

Морфологическое строение кожи создает микроокружение, достаточное для того, чтобы содержащиеся в ней иммунокомпетентные и акцессорные клетки (дендритные и макрофаги) могли обеспечить полноценный иммунный ответ в развитии локального гнойно-воспалительного процесса (120, 160, 148, 176).

Лимфоциты, рециркулирующие через кожу, постоянно взаимодействуют с эпидермальными клетками, которые первыми реагируют на антигены, воздействующие на кожу, частично элиминируя путем механического отшелушивания или фагоцитоза. На клетках эпидермиса экспрессируются HLA D/DR – антигены, взаимодействующие с CD25 – рецепторами Т-лимфоцитов, а также молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1), секреция которых стимулируется рядом цитокинов. Наиболее важным лигандом ICAM является LFA-1 семейства β_2 – интегринов (72, 103, 158, 245, 261). Поскольку адгезины играют важную роль в презентации антигена, локомоции лейкоцитов, реакциях киллинга, опосредованного лимфоцитами/макрофагами, нейтрофилами, а также в апоптозе лимфоцитов и фагоцитов, то снижение или повышение их экспрессии может нарушать иммунный гомеостаз и приводить к развитию тяжелой патологии. Так у детей с дефицитом адгезии лейкоцитов отмечается повышенная склонность к гнойно-деструктивным поражениям мягких тканей и слизистых, замедление заживления ран, прогрессирование местной и системной инфекции, несмотря на антибактериальную терапию. В то же время, при ряде гнойно-воспалительных заболеваний отмечается гиперадгезивность нейтрофильных гранулоцитов, сопровождающаяся повышенной продукцией лизосомальных гидролаз и повреждением эндотелия сосудов (140, 46, 109, 172, 44, 245).

Как известно, нейтрофилы играют ведущую роль в индукции воспаления. Они постоянно мигрируют из кровотока в ткани и выполняют свои защитные функции, продвигаясь вплоть до эпителиального слоя. Массивная нейтрофильная инфильтрация составляет важнейший элемент острой воспалительной реакции – одного из неспецифических механизмов защиты барьерных тканей и, в то же время, одного из проявлений их патологии. Установлено, что высокая степень активности острых абсцессов кожи, флегмон, лимфаденитов коррелирует с повышением количества нейтрофилов в раневых экссудатах и смывах из очага воспаления. Известно, что функциональное состояние фагоцитов во многом определяет течение и исход воспалительного процесса, в том числе при заболеваниях мягких тканей (72, 125, 144, 207). Нарушения функций нейтрофилов могут проявляться не только изменением их количества, но и рецепторных структур, метаболических процессов и др. (192). Нейтрофилы, как фагоцитирующие клетки, способны обеспечить обширный спектр ответов на активирующие стимулы. Фагоцитируемое вещество, за счет связи с рецептором нейтрофила, приводит к гиперполяризации мембраны и выбросу метаболитов кислорода, что повреждает ткани при развитии воспаления. Одновременно происходит высвобождение продуктов метаболизма арахидоновой кислоты (простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов), протеолитических ферментов (протеаз, миелопероксидазы, кислых гидролаз), цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α), лизоцима, лактоферрина и др. (55, 176, 149, 257). Продукты стимулированных нейтрофилов влияют на активность макрофагов, лимфоцитов, тромбоцитов; вызывают дегрануляцию тучных клеток; активируют системы комплемента, свертывания крови, фибринолиза, индуцируют приток новых нейтрофилов. Исследованиями последних лет показано, что функциональные свойства нейтрофилов раневого экссудата, а также смывов их очага воспаления, отличаются от внутрисосудистых нейтрофилов, так как клетки-эффекторы в зоне повреждения подвергаются массивной антигенной стимуляции, что при адекватном иммунном ответе приводит к повышению их функциональной активности. Однако, в ряде случаев, фагоциты активно входят в очаг воспаления, но, оказавшись в нем, слабо реализуют свой защитный потенциал (140, 44, 248).

Многочисленными работами по изучению функциональной активности нейтрофилов при инфекционных процессах установлено ослабление их функций, что имеет решающее значение в течении и исходе гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей (46, 109, 143, 148, 220, 245). Так, у новорожденных с ГВЗ и сепсисом, у детей с острой деструктивной пневмонией, с локальными формами пиогенной инфекции показано снижение фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов. Ослабление функциональной активности отмечалось как признак «утомления» фагоцитов после их гиперстимуляции, а также в результате антифагоцитарной направленности действия микробных продуктов в очаге воспаления («тактика микробов против стратегии фагоцитов»). В этой связи следует отметить снижение функциональной активности нейтрофилов в течение первых двух лет жизни и достижение показателей уровня взрослых у большинства детей лишь к 10-15 годам. Кроме того, по некоторым данным, с возрастом сглаживаются врожденные проявления фагоцитарных дефектов, что обусловлено «иммунологическим опытом», формируемым при постоянном контакте с микробными агентами (55, 101, 263).

Однако следует отметить, что исследования по изучению функций нейтрофилов очага повреждения при ряде заболеваний мягких тканей у детей (абсцессы, флегмоны и др.) немногочисленны, достаточно противоречивы и требуют дальнейшего уточнения.

Как известно, наряду с нейтрофилами, ведущую роль в развитии местной воспалительной реакции играют макрофаги, взаимодействие которых с НГ определяет смену клеточной популяции и их функциональную преемственность в очаге гнойного воспаления. При тканевой деструкции в результате активации макрофагов и действия продуцируемых ими медиаторов воспаления и ферментов происходит очищение раневой поверхности от гнойно-некротических масс с последующей регенерацией, восстановлением ткани и образованием рубца. Макрофагзависимым является и процесс негативной регуляции репаративных процессов за счет индукции синтеза тканевых ингибиторов протеиназ. Снижение количества и активности макрофагов способствует бактериальной колонизации органов и тканей, стабилизирует воспалительный процесс (150, 103, 143, 226). Наглядным тому подтверждением являются данные о том, что уменьшение или полное отсутствие макрофагов в ране и нарушение их функциональной активности тормозит образование грануляционной ткани и процесс рубцевания. В то же время на фоне иммунокоррекции при ГВЗ кожи по мере купирования воспаления наблюдается повышение количества макрофагов в цитограммах раневого экссудата (26, 17, 52).

В последние годы показано, что приобретенные функциональные дефекты фагоцитов при тяжелых гнойно-воспалительных процессах развиваются в условиях массированной антигенемии и могут проявляться нарушением апоптотической активности клеток (3, 119, 192).

Работы ряда авторов свидетельствуют о том, что в патогенезе гнойно-воспалительных заболеваний различной локализации важную роль играет повышенный апоптоз клеток иммунной системы, как проявление их негативной активации, вызванной действием различных апоптогенов (цитокинов, иммунодепрессантов, продуктов перикисного окисления липидов, некоторых бактериальных агентов, и др.) (172, 2, 189, 194). Однако значение апоптоза, в литературе трактуется по-разному. С одной стороны, повышенный апоптоз рассматривается как позитивный фактор, способствующий ограничению системной воспалительной реакции за счет элиминации из патологического очага нейтрофилов и лимфоцитов, продуцирующих провоспалительные медиаторы, в том числе цитокины. С другой – как негативный фактор, приводящий к развитию иммунодепрессии и подавлению защитной реакции организма на внедрение патогена (4, 184, 190, 200).

Согласно современным представлениям, воспалительная реакция, направленная на элиминацию возбудителя и ликвидацию повреждения может развиваться местно или системно, на уровне всего организма (120).

В последние годы важная роль в индукции и регуляции воспаления отводится цитокинам, которые продуцируются и секретируются практически всеми типами клеток: лимфоцитами, моноцитами/макрофагами, нейтрофилами, фибробластами, клетками эндотелия, тучными и др. (73, 103, 118, 79, 257, 273). Эти же и другие клетки несут на мембранах рецепторы для цитокинов, чем определяется их чувствительность к ним. Регуляторные эффекты ЦК относятся к антиген-неспецифическим. Антигенная стимуляция является пусковым фактором к активации многих продуцентов ЦК, участвующих в регуляции воспаления и иммунного ответа (74, 271). Регулирующие эффекты иммуноцитокинов на воспалительные реакции реализуются на разных уровнях: продукция эффекторных клеток в костном мозге; мобилизация клеток из кровяного русла; поддержание их жизнеспособности в тканях;

усиление функций, в том числе продукции иммуноглобулинов В-клетками и др. Действие ЦК осуществляется по сетевому принципу, при этом они каскадно индуцируют выработку друг друга и действуют как синергисты или антагонисты, модулируя поверхностные рецепторы к другим медиаторам (106, 271).

Цитокины, как короткоживущие продукты короткодистантного действия, в норме практически не поступают в кровоток и могут обнаруживаться в сыворотке только в очень низких концентрациях (50-100 пкг/мл). Определение уровня цитокинов в некоторых биологических жидкостях у здоровых лиц не выявило повышения локальной продукции ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α по сравнению с сывороткой (42, 15, 125, 203).

Клеточные взаимодействия при воспалении координируют так называемые "воспалительные цитокины", которые регулируют миграцию клеток в очаг воспаления, их активацию и превращение в клетки-эффекторы. Воспаление является физиологической реакцией на различные стимулы, такие как инфекция и повреждение ткани. Острая воспалительная реакция инициируется вследствие активации тканевых макрофагов и секреции воспалительных ЦК, в частности ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α, среди которых ИЛ-1 является главным медиатором развития местной воспалительной реакции. С повышенным уровнем этого цитокина в крови сопряжены лихорадка, анорексия, нейтрофилия, активация эндотелиальных клеток с повышением экспрессии на них адгезивных молекул, активация нейтрофилов, повышенный синтез острофазных белков, синтез коллагена и др. (137, 79, 222, 223). Способность фагоцитов крови людей к спонтанной и индуцированной продукции ИЛ-1 может быть повышена или снижена при различных заболеваниях. Так повышенная продукция ИЛ-1 описана при бактериальных инфекциях, туберкулезе, респираторном дистресс-синдроме. Многие провоспалительные эффекты ИЛ-1 осуществляет в синергизме с ФНО-α и

ИЛ-6, в том числе обеспечение неспецифической противоинфекционной защите. Показано, что ФНО-α участвует не только в защитных реакциях, но и в процессах деструкции, сопутствующих воспалению. Вместе с тем способность ФНО-α стимулировать рост фибробластов и индуцировать ангиогенез делает возможным его участие в процессах репарации тканей. Кроме того, на пролиферацию фибробластов влияют и трансформирующие факторы роста (ТФР) α и β, которые способствуют образованию грануляционной ткани и регенерации эпителия. Под влиянием ЦК регулируется не только рост фибробластов, но и клеток эндотелия, эпидермальных клеток, регенерация нервных окончаний (205, 241, 270).

В последние десятилетия активно изучается роль ИЛ-8 в патогенезе локальных гнойно-воспалительных процессов. Являясь селективным хемоаттрактантом для нейтрофилов, ИЛ-8 опосредует нейтрофильную инфильтрацию тканей, сопутствующую бактериальным инфекциям, травмам, ишемии и др. (138).

Течение и интенсивность воспалительного ответа контролируют «противовоспалительные» цитокины. В частности, ТФР-β, ИЛ-4, ИЛ-10 участвуют в его ограничении путем подавления секреции воспалительных ЦК, регулируя таким образом степень повреждения тканей (26, 10, 257, 232).

Дисбаланс в выработке ЦК может нарушить существующие в локальной системе взаимосвязи, что в конечном итоге ведет к патологии регенерации (длительно незаживающие раны, грубое рубцевание, развитие тяжелых экссудативных реакций и т.д.). Так, например, показано, что неблагоприятный исход тяжелых гнойно-воспалительных процессов коррелирует с повышенным уровнем провоспалительных цитокинов в сыворотке, главным образом ФНО-α, ИЛ-1β (215, 222, 240).

Приобретенные дефекты продукции цитокинов нередко связаны с вмешательством патогенных бактерий, которые часто вызывают инфекции мягких тканей, и могут индуцировать или ингибировать синтез цитокинов и экспрессию их рецепторов. Наиболее активными бактериальными компонентами являются ЛПС клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Ингибирующее действие на цитокины оказывают и растворимые рецепторы цитокинов, которые появляются в биологических жидкостях в результате их сбрасывания высоко активированными клетками очага воспаления. Так, рецепторы ИЛ-2 при тканевой деструкции, воспалении и др. могут сбрасываться с поверхности Т-лимфоцитов, находиться в циркуляции в растворимой форме и блокировать действие цитокина (221, 226, 251).

На основании данных по изменению продукции и рецепции цитокинов сформулирована концепция цитокинзависимой иммунопатологии, что важно для диагностики и коррекции иммунных нарушений, в числе при гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей (78, 77, 92, 44, 185).

В работах ряда авторов показано, что патологические процессы кожи и подкожной клетчатки сочетаются с нарушениями в системном иммунитете, которые часто носят вторичный характер, т.е. служат проявлениями дефектов продукции, активности или рецепции регуляторных цитокинов. Так, в отдельных случаях дефект Т-лимфоцитов может быть связан со снижением продукции ИЛ-2, в других – со снижением экспрессии рецептора для ИЛ-2 (CD25), или эти два дефекта могут сочетаться. Уменьшение количества CD4+ клеток и нарушение ИЛ-2, опосредованных функций лимфоцитов отмечено у больных с ожоговой травмой, тяжелыми гнойно-септическими процессами (140, 101, 215, 212). Значительное изменение способности различных клеток к продукции цитокинов (ИЛ-1, 6, ФНО) под влиянием соответствующих стимуляторов (ЛПС, ФГА, ConA и др.) выявлено у детей с первичными иммунодефицитами, хроническими неспецифическими заболеваниями легких, гнойно-воспалительными процессами различной локализации. При сепсисе, гнойно-деструктивных поражениях тканей наблюдается Т-клеточная лимфопения с нарушением соотношения регуляторных лимфоцитов в сторону снижения Т-хелперов. Например, при стафилококковом сепсисе массированная гибель Т-лимфоцитов индуцируется их предшествующей поликлональной активацией стафилококковыми энтеротоксинами, которые являются суперантигенами для Т-клеток (143, 174, 193, 203, 239). При этом В-лимфоциты могут блокироваться протеином А стафилококка и на длительный срок становиться толерантными к различным антигенам. Одновременно до 80% всех циркулирующих специфических иммуноглобулинов может быть связано суперантигенами. Кроме этого, при гнойно-воспалительных заболеваниях, в том числе мягких тканей, отмечается нарушение функциональной активности клеток макрофагально-фагоцитарной системы (МФС) со снижением их способности к фагоцитозу и перевариванию, что также создает условия для длительной персистенции возбудителей (148, 172, 206, 236, 268).

Таким образом, изучение показателей системного и местного иммунитета при гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей имеет важное значение для разработки и назначения иммунокорригирующей терапии адекватной выявленным нарушениям.

1.2. Современные методы лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей у детей.

Интенсивная терапия с использованием различных методов хирургии составляет основу лечения большинства пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей (164, 32, 87, 97, 83, 45, 191). Помимо использования традиционных методов (санация полостей деструкции, антибактериальная терапия), лечебная тактика у данной группы больных определяется превалированием тех или иных патологических изменений в организме (интоксикации, нарушений иммунологического статуса и др.).

По данным литературы, воздействие на очаг является основным элементом лечения ГВЗ (В.К. Гостищев, 1982-1991) и включает в себя принципы местного лечения ран: предупреждение осложнений (шока, кровопотери, инфекции, интоксикации); восстановление сосудистой и нервной систем; активацию общих и местных иммунологических реакций организма; устранение факторов, влияющих на процессы очищения раны и активизацию регенераторных процессов; удаление из раны микрофлоры и создание неблагоприятных условий для ее развития (38, 87, 97, 83, 88, 191, 256).

До настоящего времени хирургическая обработка раны является главным компонентом общехирургической тактики лечения ран, обеспечивающим необходимые условия для оптимального течения заживления: эвакуацию гноя, удаление девитализированных тканей, обеспечение оттока раневого отделяемого.

Известно, что для успешного лечения необходимо создание достаточной концентрации лекарственного средства в патологическом очаге, которое достигается локальным применением препаратов (69). Однако, большинство антибиотиков и антисептиков при местном применении в терапевтических концентрациях, без применения дополнительных методик, облегчающих проникновение препаратов в патологический очаг, обладают рядом существенных недостатков, среди которых наиболее значимым может быть быстрая элиминация препарата из очага воспаления (87).

Методом, позволяющим быстро добиться очищения раны, сократить экссудативную фазу воспаления и ускорить процесс перехода в репаративную фазу, является энзимотерапия. Сроки очищения ран при использовании ферментов сокращаются на 5-6 дней, что позволяет в 1,5-2 раза сократить сроки лечения больных. Однако, одним из существенных недостатков лечения протеолитическими ферментами является достаточно высокая их стоимость, что ограничивает их применение в широкой сети ЛПУ (166, 163, 36, 41, 202).

С шестидесятых годов в мире стал использоваться метод реверсивной гнотобиологической изоляции. Основной целью лечения больных в асептических условиях является попытка исключить контакт больного с экзогенной микрофлорой, а также максимально ограничить опасность его собственной флоры. Использование такого метода оправдано при обширных ранах, септических состояниях и т.д. Но данный метод не нашел широкого применения из-за необходимости использования дорогостоящей громоздкой аппаратуры, требующей постоянной технической поддержки (11, 1).

Широкое распространение в 80-е годы получил метод обработки гнойных ран пульсирующей струей антисептика (46,72). Данный способ основывается на механическом очищении раны от микробной флоры, раневого детрита и инородных частиц с помощью струи антисептика. Однако, М.И. Кузиным и соавт. (1981) было доказано, что применение пульсирующей струи в самостоятельном виде не приводит к полному очищению раны от микробных тел, и только при сочетании этой методики со стандартной хирургической обработкой раны результаты лечения могут быть удовлетворительными (87, 113, 267).

Значительный интерес в клинической практике при лечении ГВЗ представляет использование ультрафиолетового облучения. Местное применение УФ-облучения достаточно эффективно для предупреждения распространения инфекции и рассасыванию воспалительного инфильтрата, оно также благоприятно воздействует и на регенеративные процессы в ране, активизируя рост эпителия. (126, 165). По данным литературы, клинический эффект данного метода при лечении ГВЗ, прежде всего, связан с тем, что ультрафиолет поглощается нуклеиновыми кислотами, белками, и в первую очередь ДНК, что является причиной гибели бактериальной клетки, однако отсроченный эффект влияния УФ-облучения на генетический аппарат клетки до конца еще не ясен (87).

По данным многих авторов, патогенетически обоснованным и клинически оправданным является применение экстракорпоральных методов детоксикации, особенно при тяжелых и осложненных формах ГВЗ. Однако дороговизна аппаратуры и необходимость специального обучения персонала, тормозят широкое применение этих методов в клиническую практику (179).

В гнойной хирургии в последнее время используются низкоэнергетические лазеры, наибольшее распространение из которых получил гелий-неоновый лазер. Под влиянием его излучения происходит укорочение фаз раневого процесса: редуцирование фазы воспаления, быстрое развитие грануляционной ткани и ускоренное появление краевой эпителизации раны. Менее широкое применение получили гелий-кадмиевый и углекислотный лазер (95, 162, 22, 134, 170, 9, 94, 6 139, 233).

Таким образом, для лечения гнойно-воспалительных заболеваний у детей предложено большое количество физических методов, которые могут быть направлены на различные фазы воспаления.

Все вышеуказанные методики являются не идеальными, и по тем или иным причинам не заняли ведущей позиции в лечении ГВЗ (97).

Одним из перспективных методов, по данным литературы, является метод низкочастотной ультразвуковой санации (142, 85, 84, 96, 64, 29, 35, 39, 66, 191).

Среди биологических и клинических эффектов низкочастотной ультразвуковой кавитации следует отметить: механическое отторжение некротических масс и удаление фиброзных наложений с раневой поверхности, проникновение лекарственного вещества в очаг поражения и окружающие его ткани, непосредственную гибель микроорганизмов от процесса кавитации, прямое повреждение бактериальных клеточных структур, нарушение или полное прекращение окислительно-восстановительных процессов в микробной клетке. К другим действиям низкочастотного ультразвука относят повышение фагоцитарных показателей макрофагов (хемотаксиса, поглотительной функции, их переваривающей способности) (97, 29, 15, 154). Рядом ученых доказано влияние низкочастотной кавитации на неспецифическую, антимикробную резистентность макроорганизма в виде его стимулирующего действия. Ультразвук улучшает крово- и лимфообращение, обмен веществ, ускоряет процесс регенерации и эпителизации, обладает анальгезирующим, гемостатическим и противовоспалительным действием (116, 96, 16, 31).

Экспериментальными исследованиями установлено, что зависимость бактерицидного действия ультразвука зависит от технических характеристик волновода, продолжительности времени «озвучивания», температуры среды, индивидуальной резистентности отдельных штаммов микроорганизмов (51, 57, 63).

Отдельные сообщения о применении в клинике ультразвуковой кавитации (аэрозольно-ультразвукового метода) появились с начала семидесятых годов. Одними из первых изучили эффект ультразвуковой обработки гнойных ран В.В. Чаплинский (1976), В.В. Черкашин и А.А. Орлова (1977). Введение в полость гнойной раны раствора антибиотика или антисептика, который подвергается воздействию ультразвуковых колебаний с помощью аппаратов УРСК-7Н или УРСК-7Н-18, разработанных в МВТУ им. Н.Э. Баумана, способствовало более быстрому купированию гнойного процесса (130, 155, 169, 168, 34).

В 1986 г. А.Н. Горячев и соавт. в эксперименте установили, что низкочастотный ультразвук в наибольшей степени действует бактерицидно на грамотрицательную микрофлору. Выраженный бактерицидный эффект получен при использовании в качестве акустической среды антибиотиков и диметилсульфоксида. Отмечено, что при обработке ран ультразвуком повышается активность оксиноредуктаз, участвующих в бактериальной системе нейтрофилов. Использование низкочастотного ультразвука при хирургической обработке открытых переломов позволило авторам снизить частоту гнойных осложнений с 25% до 10% (169, 57, 64). Авторы отмечали подавление роста микрофлоры, быстрое очищение ран и развитие грануляций, сокращение сроков лечение. По их мнению под воздействием ультразвука в жидкости возникает ряд эффектов – звуковое и радиационное давление, акустические потоки, кавитация и т.д. Они обеспечивают интенсивную очистку поверхности раны с эмульгированием раневого отделяемого; введение лекарственных веществ в ткани на глубину 2,5-3 см (кожа, мышцы) и до 2-3 мм (костная ткань); подавление способности микробных клеток к размножению и ускорение репаративных процессов (65, 86, 114, 31, 49).

В.И Кузнецов и соавт. (1986) показали, что ультразвуковые колебания низкой и средней частоты по-разному действуют на течение раневого процесса. Низкочастотный ультразвук, действуя преимущественно на первую фазу, ускоряет очищение раны за счет кавитационного разрушения клеточных элементов отделяемого и выделения лизосомальных энзимов, хемотаксических факторов, бактерицидных катионных белков. (182, 39, 66). Эти факторы усиливают протеолитическую активность экссудата, стимулируют фагоцитарную и антибактериальную активность нейтрофилов. Среднечастотный ультразвук стимулирует вторую фазу раневого процесса. Наиболее эффективно сочетание среднечастотного и низкочастотного ультразвука, что подтверждено и клиническими итогами лечения (117, 180, 109).

М.И. Кузин и соавт. (1990) применяли ультразвуковую кавитацию в процессе хирургической обработки у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей. При этом было установлено, что при кавитации через раствор фурациллина или хлорида натрия существенно снижалась обсемененность ран (87, 35). При цитоморфологическом исследовании авторами было подтверждено почти полное очищение раны от некротической ткани и микрофлоры, а количество разрушенных нейтрофилов после ультразвуковой обработки снижалось с 86 до 13%.

Таким образом, низкочастотный ультразвук обладает гемостатическим эффектом, прямым бактерицидным действием, облегчает проникновение лекарств, озвучиваемой жидкости в ткани, стимулирует процессы репарации. За счет микромассажа тканей раны УЗК улучшает микроциркуляцию и механически очищает поверхность раны от фибрина и некротических масс (84, 37, 107, 15, 43).

Однако, использование данного метода, является патогенетически обоснованным, но недостаточным для эффективного лечения больных с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

В последние годы установлено, что многие гнойно-воспалительные заболевания у детей и подростков (гнойно-деструктивные заболевания легких, перитониты, инфекции мочевыводящих путей, и др.) протекают с развитием выраженного иммунодефицита (61, 132, 100, 91, 258, 259). Иммунные дисфункции сопровождают также гнойно-воспалительные заболевания кожи и подкожной клетчатки, которые не только являются первым естественным барьером между организмом и внешней средой, но и участвуют в генерации локальных и системных иммунных ответов (21, 167, 55, 183, 224).

Важнейшим патогенетическим фактором иммунной депрессии является накопление в организме эндогенных супрессорных факторов (протеолитических ферментов, активных метаболитов кислорода, кининов, провоспалительных цитокинов, белков острой фазы, иммунных комплексов, продуктов распада тканей, микроорганизмов и т.д.), препятствующих нормальному функционированию клеток иммунной системы, и как следствие, нормальной продукции регуляторных медиаторов иммунитета (24). Явления иммунодефицита усугубляют антибактериальные, противовоспалительные препараты, анестетики и др. Нарушения в системе иммунитета создают благоприятные условия для активации условно-патогенной флоры, снижают эффективность проводимой терапии, что способствует затяжному течению болезни и развитию осложнений (140, 52, 13, 188, 234).

В связи с этим, восстановление функциональной полноценности иммунной системы является важной частью комплексной терапии гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей (58, 70, 77, 152, 60, 243).

Как отмечалось ранее, традиционное лечение ГВЗ мягких тканей у детей включает хирургическую санацию патологического очага, антибактериальную терапию, применение ферментных и др. препаратов, физиолечение (7, 87, 97, 191). Недостаткам такой терапии часто являются высокая затратная стоимость, длительность, аллергические реакции, рецидивирование, затяжное течение и хронизация воспаления (48, 123, 115, 32).

Использование иммунотропных средств, а также локального применения физических методов лечения приводит к улучшению показателей течения раневого процесса, иммунологической резистентности, способствует повышению эффективности комплексного лечения по сравнению с общепринятыми методами, сокращает частоту рецидивов и осложнений (127, 140, 28, 80, 25, 52, 199).

Изучению эффективности применения у больных гнойно-воспалительными заболеваниями различных средств иммунокоррекции посвящены многочисленные работы. Так, с целью пассивной иммунотерапии и улучшения показателей гуморального звена иммунитета в острой стадии заболевания используют переливание крови, трансфузии фракционированной аутологичной крови, антистафилококковой плазмы, введение различных видов иммуноглобулинов (97, 88, 147).

Муромский Ю.А., Медвенский Б.В. (1982, 1987 гг.) приводят данные об эффективности применения в комплексной терапии Т-активина, левамизола, продигиозана, миелопида и др. Целесообразность назначения данных препаратов определялась возможностью активации синтеза секреторного IgA, повышения фагоцитарной активности макрофагов, устранения дисбаланса Т-лимфоцитов, что приводило к ускорению репаративных процессов и потенцированию лечебного действия антибиотиков (124, 108).

Поскольку при ГВЗ мягких тканей у детей и подростков выявляются нарушения в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета, патогенетически обоснованным считается применение препаратов, стимулирующих дифференцировку и активность Т- и В- лимфоцитов (104, 135, 122, 141, 143).

Так, с целью восстановления нарушенных функций иммунной системы и ускорения процессов репарации в клинике при гнойно-воспалительных заболеваниях успешно используются ликопид, миелопид, полиоксидоний и др. для системного введения (104, 173, 133, 256).

Показано, что использование миелопида, представляющего собой высокоочищенную смесь миелопептидов с молекулярными массами 50-3000 Да, выделенную из супернатанта культуры клеток костного мозга свиньи, (104) повышает клиническую эффективность лечения больных с различными патологическими процессами, протекающими на фоне иммунодефицитного состояния, снижая постхирургические и посттравматические инфекционные осложнения. Кроме того, Миелопид эффективно используется для предупреждения генерализованных и локальных инфекционных осложнений после термических и химических ожогов, действия ионизирующего излучения, химиотерапевтических и гормональных препаратов, а также после воздействия неблагоприятных экологических факторов (106, 105, 104). Фармакологическая активность миелопида основана на регуляторных эффектах входящих в его состав миелопептидов, воздействующих на определенные клетки-мишени посредством лиганд-рецепторных взаимодействий и исправляющих нарушения в Т-, В-, макрофагально - фагоцитарной системах иммунитета, звеньях гемопоэза. В немногочисленных работах по применению миелопида для локального использования отмечается положительная эффективность препарата в течение разлитых перитонитов различного генеза (104).

В последние годы в центре внимания современной клинической иммунологии находятся и другие регуляторные пептиды - цитокины. Установление природы, структуры, механизмов действия многих цитокинов открыло возможности для их широкого применения в практической медицине для лечения заболеваний (28, 71, 25, 157, 196).

Цитокины используют в качестве стимуляторов гемопоэза и мобилизаторов стволовых клеток (ГМ- и Г-КСФ, ИЛ-3); противовирусных иммуностимулирующих средств при вирусных заболеваниях (ИНФ); иммуномодуляторов при аутоиммунных и иммунодефицитных состояниях (ИЛ-2, ИЛ-1); противовоспалительных средств при ревматических заболеваниях (ИЛ-1рα, растворимые формы рецепторов ИЛ-1 и ФНО); противоопухолевых препаратов (α и γ-ИФН, ИЛ-2, ФНО-α, ИЛ-1) (75, 82, 10, 99, 112, 187, 188, 201, 252).

Наиболее изученными и широко используемыми цитокинами в клинической практике являются препараты интерферона (56, 10, 91), которые применяют в качестве противовирусных средств и для лечения ряда опухолей (реаферон, эгиферон и др.). В клинических и экспериментальных наблюдениях были определены основные подходы к применению ИФ-α в педиатрической практике. Один из них – необходимость сочетания ИФ-α с препаратами антиоксидантного действия. (84). Созданный в России рекомбинантный интерферон-α (виферон) применяли в сочетании с антиоксидантами (витамин Е и С), что усилило его действие в 7 - 14 раз (58).

При применении виферона у детей и подростков при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний (пневмонии, менингите, сепсисе, врожденных инфекциях, хронических вирусных гепатитах и др.) отмечено повышение сниженного количества Т-лимфоцитов, нормализация иммунорегуляторного индекса, а также числа натуральных и активированных киллеров, повышение экспрессии HLA-DR антигенов мононуклеарами (82).

Отечественный препарат лейкинферон, включающий ИФН - α, ИЛ-1, 6, 12, ФНО-α, МИФ и др., успешно применяют при острых и хронических инфекциях различной этиологии (97, 93, 18, 62). Так, при грамотрицательных и стафилококковых инфекциях, терапия лейкинфероном приводила к быстрому повышению всех показателей фагоцитоза (фагоцитарного числа, индекса завершенности фагоцитоза и др.), увеличению индуцированной хемилюминесценции, числа CD4+ лимфоцитов, обычно депрессированных при инфекционном процессе.

Рядом авторов показана эффективность применения препарата ИЛ-1 (Беталейкина) при лечении больных с гнойно-септическими процессами: генерализованным сепсисом, перитонитом, абсцессом легких, синуситом (202, 192, 193). Способность ИЛ-1 активировать пролиферацию фибробластов и метаболизм соединительной ткани позволила использовать его для ускорения заживления ран (19, 81, 17). При анализе воздействия Беталейкина на течение раневого процесса была установлена эффективность препарата в отношении стимуляции очищения гнойных ран и полостей, ускорения роста грануляционной ткани. Это сочеталось с возрастанием содержания в периферической крови CD3+, CD20+, CD25+ лимфоцитов, усилением их способности к пролиферации, а также повышением продукции ИЛ-2 и функциональной активности нейтрофилов (82). Однако другие свойства ИЛ-1 нередко приводят к появлению побочных реакций, которые могут нивелировать положительные терапевтические эффекты препарата. В связи с тем, что ИЛ-1 вызывает лизис костной и хрящевой ткани, при применении препаратов ИЛ-1 нередко наблюдаются злокачественная деструкция костей и развитие артрита (19, 145, 121, 221).

В настоящее время накоплен достаточный опыт клинического применения рекомбинантных препаратов ИЛ-2 (Ронколейкина, Пролейкина и др.) при туберкулезе, онкологических заболеваниях, первичных иммунодефицитах (136, 161, 137, 119, 30). При иммунотерапии рекомбинантными препаратами ИЛ-2 не только восстанавливается количество иммунокомпетентных клеток, но и увеличивается их функциональная активность, в том числе способность к синтезу цитокинов, иммуноглобулинов, повышается устойчивость клеток к апоптозу (53). Проведенными исследованиями подтверждена эффективность применения Ронколейкина при тяжелых ранениях, травмах и гнойно-воспалительных заболеваниях для предупреждения инфекционных осложнений.

Однако, регуляторные пептиды, как короткоживущие продукты короткодистантного действия, оказывают желаемый эффект при условии их высокой локальной концентрации, а их системное назначение может сопровождаться развитием побочных эффектов (61, 74, 23, 257). Наличие факторов локального иммунитета кожи обусловливает возможность местного применения иммуномодулирующих средств. Поэтому, одним их наиболее перспективных методов лечения является локальное применение иммунорегуляторных пептидов. В этих процессах экзогенно введенные пептиды могут выполнять двойственную функцию. С одной стороны, инициировать миграцию клеток крови в рану, стимулировать кислородный метаболизм и фагоцитоз, с другой, вести к очищению раневой поверхности от гнойно-некротических масс, способствовать ускорению наступления фазы регенерации (73).

В литературе описаны случаи местного применения индивидуальных цитокинов с целью регуляции заживления ран. Так, ускорение заживления ран (трофических, инфицированных, ожоговых и др.) отмечалось при лечении мазями, содержащими интерфероны, Беталейкин (156). Положительные результаты получены при местном применении Беталейкина при гнойных гайморитах, абсцессах легких и эмпиемах плевры (30, 145). По данным ряда авторов, местное применение мазевой формы ИЛ-8 ускоряет заживление кожных ран у иммуносупрессированных животных. Улучшение течения раневого процесса опосредованно усилением реэпителизации, увеличением клеточной инфильтрации раневого очага, а также ускорением процессов формирования грануляционной ткани и образования коллагена (138).

Однако, будущее локальной иммунотерапии связывают с комбинированным применением пептидов в физиологических дозах, т.к. в организме их регулирующее действие на клетки мишени определяется не индивидуальным пептидом, а их композицией (140, 181, 78, 28, 52).

На кафедре иммунологии РГМУ был разработан новый лечебный принцип аутоцитокинотерапии, основанный на местном применении комплекса цитокинов, полученного при культивировании лейкоцитов периферической крови пациента. Многолетние исследования показали высокую клиническую эффективность аутоцитокинотерапии, которая заключалась в быстром исчезновении воспаления, ранней эпителизации, формировании нежной рубцовой ткани, анальгезирующем эффекте, отсутствии аллергических реакций у больного, ограничении применения антибиотиков и гормональных препаратов, продлении ремиссии при хронических процессах. Однако у людей с компрометированной иммунной системой наблюдается изменение выработки ряда цитокинов, что делает неэффективным применение аутолимфокинотерапии (76).

Одним из препаратов, позволяющим избежать этих негативных эффектов является Суперлимф, разработанный на кафедре иммунологии РГМУ и являющийся естественным комплексом природных цитокинов (ЕКПЦ), секретируемых при культивировании ФГА – стимулированных лейкоцитов периферической крови человека или свиньи, включающий ИЛ-1, 6, 12, ФНО-α, МИФ и др. в их естественном соотношении (77).

Изучение иммунобиологических эффектов Суперлимфа подтвердило, что действие препарата иммунотропно и связано с модуляцией реакций, управляемых цитокинами первой фазы воспаления. При этом иммунорегуляторное действие Суперлимфа реализуется путем влияния на пролиферацию и дифференцировку, а также на функциональную активность Т-лимфоцитов (61, 80). В большинстве клинических наблюдений (84, 114, 90) отмечена тенденция к повышению числа дифференцированных В-лимфоцитов, нарастание уровня IgA, IgM и IgG; активация киллерных клеток крови доноров и пациентов с герпетической, цитомегаловирусной и др. инфекциями, а также нормализация цитокинового статуса (снижение уровня циркулирующего ИФН и восстановление ИФН-α и -γ продуцирующей способности лейкоцитов). Важным аспектом действия комплекса цитокинов является не только регуляция иммунных и репаративных процессов, но и контроль спектра микрофлоры (бактерии, вирусы, патогенные грибы и др.), что подтверждается положительным лечебным эффектом при некоторых бактериальных и вирусных инфекциях (140, 181).

Работами ряда авторов показана высокая клиническая эффективность локального применения комплексных препаратов иммунорегуляторных пептидов (Суперлимф и Лейкинферон) при лечении раневых процессов различной этиологии, при воспалительных заболеваниях глаз, пародонта, верхнечелюстных пазух, легких (140, 181, 78, 28, 52), что обосновывает перспективность их использования при лечении различных воспалительных заболеваний.

Таким образом, большие возможности в улучшении результатов терапии гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей открывает использование в программах хирургического лечения локальной иммунокоррекции.

В доступной литературе нет данных о сочетанном локальном применении препаратов иммунорегуляторных пептидов и низкочастотной ультразвуковой кавитации, что обосновывает актуальность изучения механизмов и эффективности данного способа при лечении гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

1.1. Клиническая характеристика больных.

Под нашим наблюдением в период с 1999 по 2002 год в Детской областной больнице города Орла находились 132 пациента с ГВЗ мягких тканей, 56 из которых проводилась комплексное лечение, с включением локальной иммунокоррекции и (или) ультразвуковой кавитации.

При подборе больных мы исходили из распространенности и тяжести заболеваний, недостаточной эффективности традиционных методов лечения, возможности развития осложнений, приводящих к неблагоприятным исходам и рецидивам заболевания, наличия у большинства пациентов нарушений в системном и локальном иммунитете, усугубляющихся применением препаратов, обладающими иммуносупрессивными свойствами.

Программа диссертационного исследования утверждена на заседании Этического комитета Медицинского института Орловского государственного университета (протокол №1, от 15 сентября 2002) в соответствии с требованиями Основ законодательства РФ «Об охране здоровья граждан»; у всех больных и законных представителей недееспособных пациентов получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. Отчет по проделанной работе заслушан на заседании Этического комитета (протокол №6, от 28 марта 2003 года).

При оценке эффективности лечения больных учитывали данные объективного обследования, клинико-лабораторных и функциональных исследований до, после лечения и в отдаленные сроки наблюдения (6-12 месяцев).

Все больные были разделены на четыре группы. Первую группу составили 76 пациентов, получавших традиционную терапию; вторую группу – 13 больных, получавших УЗК с физиологическим раствором; третью группу – 22 пациента, которым проводилась локальная иммунокоррекция препаратом Суперлимф («Иммунохелп» РГМУ, Россия) и УЗК; четвертую группу – 21 пациент, получавший локальную иммунокоррекцию препаратом Миелопид (НПЦ Медицинская иммунология МЗ РФ, Россия) и УЗК.

Во все группы были включены подростки от 14 до 16 лет (средний возраст пациентов I группы - 14,8±0,4 лет, II группы – 14,3±0,1 лет; III и IV группы – 14,1±0,2 и 14,2±0,5 лет, соответственно), сопоставимые по полу, и характеру патологического процесса в мягких тканях, распределение в них было случайным.

Среди больных было 69 мальчиков (53%) и 63 девочки (47%) (табл. 1).

Таблица 1.

Распределение подростков по полу.

Распределение подростков по полу	Мальчики		Девочки	
	количество	%	количество	%
I группа	39	51%	37	49%
II группа	7	54%	6	46%
III группа	12	55%	10	45%
IV группа	11	52%	10	48%

Примечание: I группа – пациенты, получавшие традиционную терапию; II группа - пациенты, получавшие УЗК с физиологическим раствором; III группа, пациенты, получавшие ЛИ с Суперлимфом и УЗК; IV группа - пациенты, получавшие ЛИ с Миелопидом и УЗК.

29,7% больных имели в анамнезе гнойно-воспалительные заболевания (фурункулы, карбункулы, абсцессы различных локализаций), 11,4% по данному поводу подвергались хирургическому вмешательству. Из общего числа больных 64% страдали частыми ОРВИ (до 5-6 раз в год), 40,2 % имели сопутствующую соматическую патологию (хронический гастродуоденит, атопический дерматит, энтеробиоз, сахарный диабет). Существенных различий в структуре соматической патологии в исследуемых группах выявлено не было.

Распределение подростков по нозологическим формам гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей представлено в таблице 2, из которой следует, что большую часть составили больные с лимфаденитами (25,3%), фурункулами (18,7%) и абсцессами (14,7%) мягких тканей различных локализаций. Кроме того, в исследуемых группах, имелись пациенты с нагноившимися свищами, кистами, доброкачественными опухолями, парапроктитами, (всего 8 человек).

Таблица 2.

Распределение по нозологическим формам в исследуемых группах.

Нозологическая форма	Группы			
	I группа	II группа	III группа	IV группа
Абсцессы	9 (16%)	3 (23%)	3 (14%)	3 (14%)
Флегмоны	6 (11%)	2 (15%)	2 (9%)	3 (14%)
Лимфаденит в стадии абсцедирования	14 (25%)	3 (23%)	6 (27%)	5 (24%)
Панариций	5 (9%)	-	2 (9%)	1 (5%)
Фурункул	8 (14%)	2 (15%)	4 (18%)	5 (24%)
Мастит	4 (7%)	1 (8%)	1 (4,5%)	-
Инфицированная рана	6 (11%)	1 (8%)	3 (14%)	2 (9,5%)
Прочая патология	4 (7%)	1 (8%)	1 (4,5%)	2 (9,5%)
Итого	56 (100%)	13 (100%)	22 (100%)	21 (100%)

Примечание: I группа – пациенты, получавшие традиционную терапию; II группа - пациенты, получавшие УЗК с физиологическим раствором; III группа, пациенты, получавшие ЛИ с Суперлимфом и УЗК; IV группа - пациенты, получавшие ЛИ с Миелопидом и УЗК.

Большинство больных 129 (97,7%) поступили в стационар в экстренном порядке по направлениям лечебно-профилактических учреждений или самостоятельно при обращении в приемный покой.

Продолжительность заболевания от момента появления первых клинических симптомов до госпитализации в клинику составляла в среднем 4,7±0,7 дня. При этом следует отметить, что большинство больных – 108 человек, (81,9%) были доставлены в стационар позднее 24 часов от момента начала заболевания.

Результаты лечения оценивали в 4-х балльной системе по совокупности системных и локальных показателей выраженности воспалительного процесса в мягких тканях на 1, 3, 6, 9 сутки и на момент выписки. При этом учитывали: общее состояние; температуру тела и длительность лихорадочного периода; количество и характер раневого отделяемого; боль, припухлость, гиперемию, нарушение функции в очаге поражения; число лейкоцитов в периферической крови и показатели СОЭ (таблица 3).

В ряде случае с целью уточнения характера и локализации гнойного процесса, наличия осложнений, выбора оптимального доступа и метода санации применялась ультразвуковая эхография.

Таблица 3.

Оценка выраженности воспалительного процесса в мягких тканях.

№ п/п	Клинические и лабораторные данные	Баллы			
		3	2	1	0
1.	Общее недомогание, слабость, беспокойство, снижение аппетита	Резко выражены	Умеренные	Незначительные	Отсутствуют
2.	Температура тела	39,1° и выше	39,0°-38,1°	38,0°-37,1°	Нормальная
3.	Длительность лихорадочного периода	Свыше 5-и суток	От 3 до 5 суток	От 1 до 3-х суток	До суток
4.	Боль	Резко выражена	Умеренная	Незначительная	Отсутствует
5.	Инфильтрация, отек в области гнойного очага	Резко выражена	Умеренная	Незначительная	Отсутствует
6.	Нарушение функции	Резко выражена	Умеренная	Незначительная	Отсутствует
7.	Гиперемия	Разлитая, выходящая за границы патологического очага	Локализованная, выходящая за границы патологического очага	Локализованная, в пределах патологического очага	Отсутствует
8.	Характер и количество раневого отделяемого	Гнойное, обильное	Гнойное, умеренное	Серозное, скудное	Отсутствует
9	Уровень лейкоцитов периферической крови	Свыше 20×10^9/ литр	От 15 до 19×10^9/ литр	От 10 до 14×10^9/ литр	До 10×10^9/ литр
10	Показатель СОЭ	Свыше 25 мм/час	От 24 до 20 мм/час	От 19 до 15 мм/ час	До 15 мм/час

1.2. Методы лабораторного обследования больных.

Общеклинические лабораторные исследования проводились с использованием унифицированных стандартных методов на базе клинической лаборатории Детской областной больницы г. Орла.

Иммунологические исследования выполнялись на кафедре иммунологии и специализированных клинических дисциплин Медицинского института ОГУ и в лаборатории клинической иммунологии Детской областной больницы г. Орла.

С целью оценки показателей системного иммунитета изучали субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови, экспрессию ими активационных маркеров, уровень иммуноглобулинов А, М, G и цитокинов ИЛ-1β, 8, ФНО-α в сыворотке крови, фагоцитарную активность нейтрофилов.

Лимфоциты и нейтрофильные гранулоциты выделяли, используя двойной градиент плотности фиколл-верографина (1,077 и 1,114 г/см^3) по общепринятой методике (159).

Фенотип лимфоцитов и нейтрофилов определяли в иммунофлюоресцентном тесте с использованием FITC и фикоэритрин меченных моноклональных антител (ООО «Сорбент», г. Москва), согласно прилагаемым инструкциям и рекомендациям.

Смывы из гнойной полости собирали посредством активной аспирации предварительно введенного в нее физиологического раствора и центрифугировали при 1500 оборотах/мин. в течение 10 минут. Осадок, представляющий собой клеточную суспензию, использовали для исследования клеточного состава смыва, определения функциональной активности входящих в него нейтрофилов и проведения экспериментальных исследований по изучению влияния препаратов Суперлимф и Миелопид на фагоциты. В надосадочной фракции определяли уровень цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-8, ФНО-α) и иммуноглобулинов А, М, G.

Концентрацию иммуноглобулинов А, М, и G оценивали методом радиальной иммунодиффузии с помощью стандартных планшетов «Реафарм» (г. Москва).

Количественная оценка уровней ИЛ-1β, ИЛ-8 и ФНО-α в сыворотке крови больных и смывах проводилась с помощью набора реагентов ООО

“Протеиновый Контур” и ООО «Цитокин» г.Санкт-Петербург методом твердофазного иммуноферментного анализа (156).

Определение показателей фагоцитоза (% фагоцитирующих клеток выполнялось с помощью реагентов фирмы «Диа^{Э}М» (г. Москва) по стандартной методике (159).

Микробиологические исследования проводились бактериологической лаборатории Детской областной больницы г. Орла в соответствии с методическими рекомендациями МЗ СССР (1985 г.).

Забор содержимого гнойного очага для проведения микробиологических исследований осуществлялся перед вскрытием гнойной полости путем ее пункции стерильным шприцем.

При наличии гнойной раны раневое отделяемое бралось стерильным ватным тампоном из глубины раны до ее обработки физическими факторами (УЗК), антисептиками и локальной иммунокоррекции, а также на третьи сутки лечения, и по окончании лечения.

В случае забора материала стерильным тампоном, последний помещался в среду обогащения (сахарный бульон 0,5-1%) на 18-20 часов в термостат при температуре 37°С. После обогащения производился посев на плотные питательные среды Эндо, желточно-солевой агар, кровяной агар, среду Сабуро (СПб. НИИЭМ им. Пастера МЗ РФ). Далее чашки Петри помещались в термостат при температуре 37°С. Посевы просматривались ежедневно. При появлении роста на плотной среде изучалась морфология колоний. Давалась количественная оценка роста. В случаях выявления колоний различной морфологии подсчитывалось число колоний каждого вида. При этом выявлялся ведущий вид в ассоциации. По 2-3 колонии каждого вида отсеивались на соответствующие питательные среды для дальнейшей идентификации, определения чувствительности к антибиотикам, а также производилась окраска по Граму.

Определение чувствительности выделенного возбудителя к антибиотикам, производилась методом диффузии в агар с использованием бумажных дисков. На поверхности питательной среды АГВ, разлитой в чашки Петри, наносилась полученная бактериальная взвесь в количестве 1 мл. Использовалась 18-20 часовая бульонная культура возбудителя, либо смыв с 18-20 часовой культуры с плотной питательной среды. Взвесь равномерно распределялась стерильным шпателем. Чашки подсушивались при комнатной температуре 30-40 минут, после чего на поверхность чашки с помощью пинцета помещались диски с антибиотиками. На одну чашку помещалось 6-10 дисков на расстоянии 2 см друг от друга и от края чашки. Чашки инкубировались при температуре 37°С в течении 18-20 часов в перевернутом вверх дном положении. Учет результатов проводился, измеряя с помощью линейки диаметры зоны задержки роста возбудителя вокруг дисков, включая диаметр диска по таблице коррелятивной связи диаметра зон задержки роста и значений МПК антибиотиков.

Цитологические исследования выполнялись на базе патологоанатомического отделения Городского медицинского объединения им С.П. Боткина.

Для цитологического анализа течения раневого процесса использовали мазки-отпечатки раневого отделяемого на 1, 3, 6 сутки лечения.

Мазки-отпечатки получали после очищения поверхности раны сухим тампоном, путем двукратного прикосновения к одному и тому же участку обезжиренным стеклом. Мазки-отпечатки высушивали при 25-30°С, фиксировали в метиловом спирте и окрашивали по Романовскому-Гимза и по Граму.

Обзорная микроскопия, подсчет клеток раневого отделяемого производилась с помощью иммерсионной системы светового микроскопа с 600-900 кратным увеличением. После подсчета 100-200 клеточных элементов определялось процентное соотношение их в мазках-отпечатках.

2.3. Методы экспериментальных исследований.

Экспериментальные исследования выполнены на кафедре иммунологии и специализированных клинических дисциплин Медицинского института ОГУ.

В экспериментальной части работы лимфоциты и нейтрофилы периферической крови здоровых подростков и больных с ГВЗ мягких тканей выделяли, как описано в п. 2.2.

Влияние иммунорегуляторных пептидов на функциональную активность нейтрофилов изучали после их инкубации с препаратом Суперлимф (комплекс гетерологичных цитокинов с активностью МИФ, ИЛ-1,2,6, ФНО-α и ТФР-β) или Миелопид (композит свиных миелопептидов).

Для определения экспрессии поверхностных рецепторов CD11b и CD16, нейтрофилы периферической крови и смывов из очага воспаления, выделенные по указанной методике, в концентрации 2 млн./мл инкубировали в течение 3 часов в сывороточной среде RPMI-1640 с препаратом суперлимф (5, 10 мкг/мл) или миелопид (30, 60 мкг/мл) в присутствии зимозана (зимозан, «Difco», США) (3 мкг/мл) в лунках 96-луночных планшетов при 37°С в атмосфере 5% CO_2. В контрольные лунки изучаемые препараты не вносились. По окончании срока культивирования, планшет центрифугировали при 2000 об./мин. 3 минуты, удаляли супернатанты, клетки трижды отмывали средой 199 («Финбио», Россия) и оценивали их мембранный фенотип (см. п. 2.2).

С целью определения апоптотической активности нейтрофилов, клетки культивировали в течение 24 часов в полной среде RPMI-1640 («Финбио», Россия) с препаратами Суперлимф и Миелопид, после чего нейтрофилы отмывали от препаратов и оценивали их апоптотическую активность по способности экспрессировать Fas/APO-1/ CD95 антиген.

Для определения способности клеток к продукции цитокинов, взвесь нейтрофилов, полученных из крови или полостных смывов, в концентрации 2 млн./мл инкубировали в течение часа в сывороточной среде RPMI-1640 с препаратом Суперлимф или Миелопид в лунках 96 - луночных планшетов при 37°С в атмосфере 5% CO_2. В качестве индуктора синтеза цитокинов использовали ФГА (фитогемагглютинин, «Difco», США) в концентрации 10 мкг/мл. По окончании инкубации клетки в планшетах трижды отмывали от препарата средой 199, ресуспендировали в полной среде RPMI-1640 в объеме 100 мкл и культивировали в стандартных условиях в течение 18 часов. Для исследования брали супернатанты нейтрофилов, полученные путем десятиминутного центрифугирования культуральной смеси при 1500 об./мин. Концентрацию цитокинов ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α определяли методом твердофазного ИФА с помощью коммерческих тест – систем «Протеиновый контур» и «Цитокин» (г. Санкт-Петербург).

1.3. Способ локальной иммунокоррекции в сочетании с ультразвуковой кавитацией.

Локальная иммунокоррекция в сочетании с ультразвуковой кавитацией применена нами в комплексном лечении 43 больных с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей: у 22 – локальная иммунокоррекция препаратом Суперлимф, у 21 – локальная иммунокоррекция препаратом Миелопид. Тринадцати пациентам проведена ультразвуковая кавитация с физиологическим раствором.

Контрольную группу составили 76 пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей, сопоставимых по полу, возрасту и тяжести течения заболевания.

Всем больным проводилась традиционная терапия, включавшая вскрытие, дренирование и санацию гнойных очагов, комбинированную общую и местную антибактериальную, дезинтоксикационную терапию и симптоматическое лечение.

Активное хирургическое лечение гнойной полости состояло во вскрытии и дренировании патологического очага (7).

Следующим этапом проводилась локальная иммунокоррекция в сочетании с УЗК гнойной полости (рис. 1).

ЛИ и УЗК выполнялась интраоперационно и в послеоперационном периоде ежедневно в течение 3-5 дней до полного заживления раны.

Рис. 1. Фотография процедуры ЛИ и УЗК абсцесса мягких тканей области подбородка.

Противопоказанием к проведению ЛИ и низкочастотной ультразвуковой кавитации являлась индивидуальная непереносимость или аллергическая реакция пациента на компоненты озвучиваемой жидкости. У детей, находящихся в тяжелом состоянии УЗК проводилось в сокращенном временном интервале, из-за удлинения времени операции (146, 87, 135).

Для ультразвуковой обработки инфицированных биологических тканей разработаны и серийно выпускаются несколько отечественных аппаратов: УРСК 7Н-18, УРСК 7Н-22, прибор «Роса», и другие. Все они состоят из электронного блока, акустических узлов с электромеханическими преобразователями и сменных инструментов-концентраторов энергии ультразвука.

Рис. 2. Фотография аппарата УРСК 7Н18.

В своей работе мы применяли аппараты 7Н-18 с потребляемой мощностью 0,16 кВА, частота колебаний 26,5 кГц (34, 111).

УЗК проводилась на аппарате УРСК 7Н 18 (фото 2) в ручном режиме при настройке акустического узла в резонанс с контролем по шкале амперметра.

В качестве озвучиваемой жидкости использовался свежеприготовленный раствор препарата Суперлимф (в концентрации 2 мкг/мл) или Миелопид (в концентрации 60 мкг/мл), с обязательной 3-4 кратной сменой раствора за время санации (91). Нами была предложена защитная насадка, изготовленная из нержавеющей стали и исключающая контакт озвучиваемой поверхности с волноводом (рис. 3). Насадка жёстко крепится на резьбе к корпусу волновода, на конце которого имеются множественные отверстия для прохождения ультразвуковой волны. Расстояние от конца волновода до края насадки составляет 3 мм (оптимальное расстояние, при котором не происходит повреждения прилежащих тканей и выявлен максимальный лечебный эффект ультразвука).

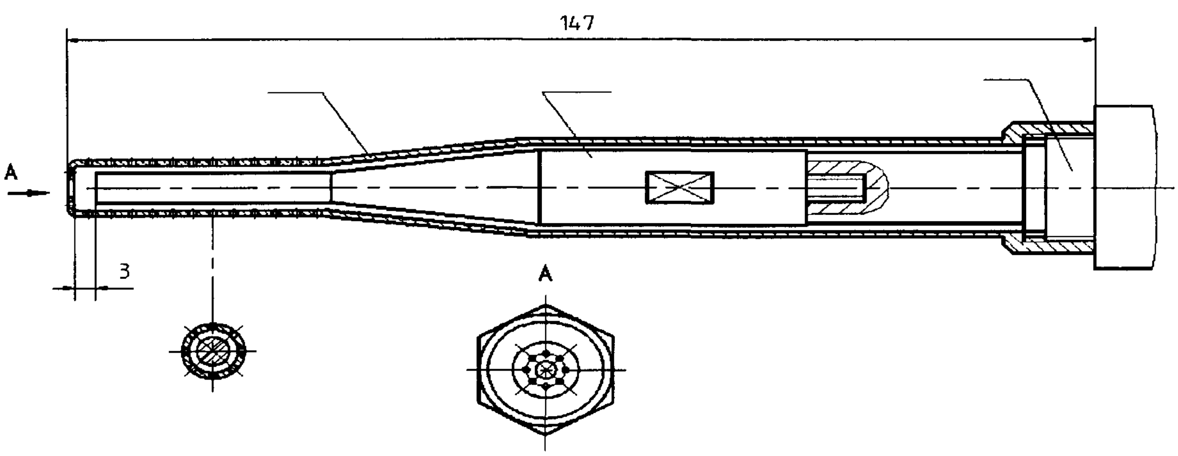

Рис. 3 А. Схема защитной насадки для волновода с акустическим узлом в разрезе (общий вид).

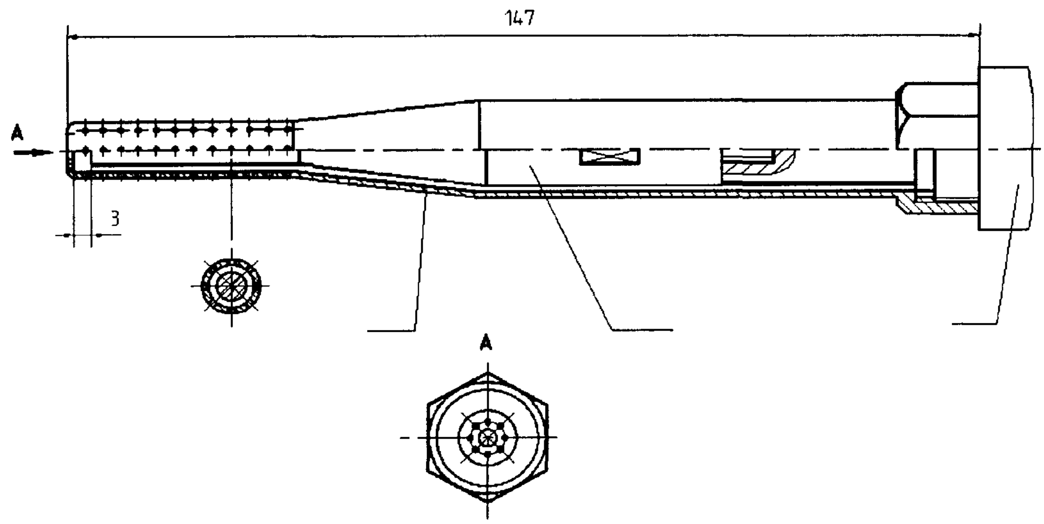

Рис. 3. Б. Схема защитной насадки для волновода с акустическим узлом в разрезе (вид с указанием деталей).

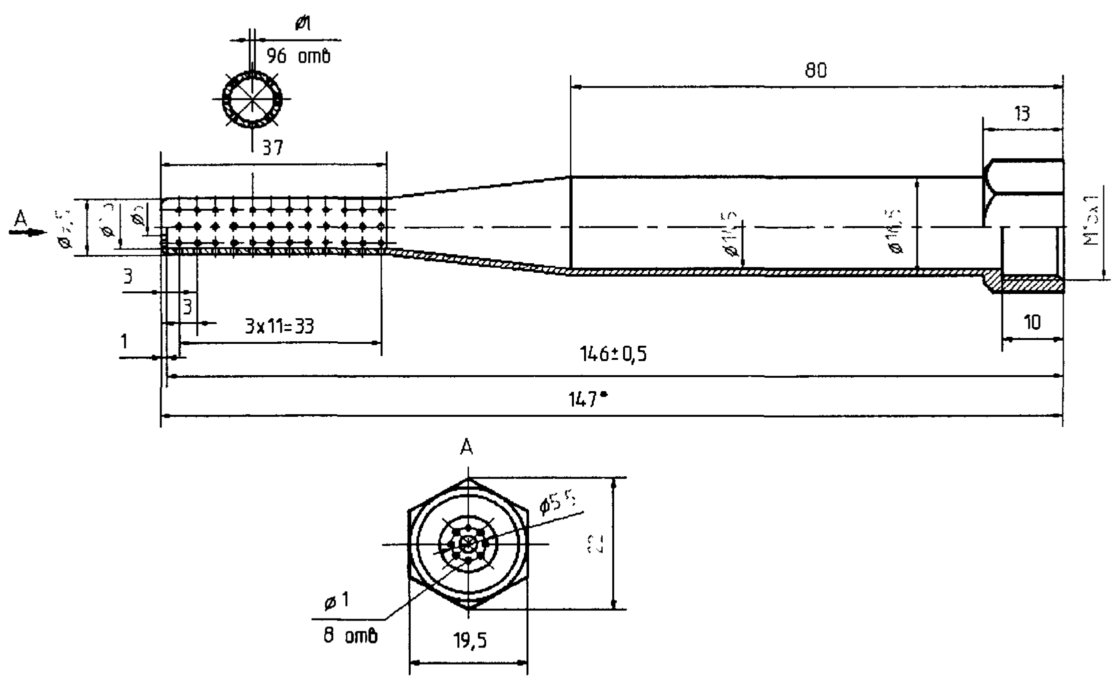

Рис. 3. В. Схема защитной насадки для волновода с акустическим узлом в разрезе (вид с указанием размеров деталей).

Если рана была выслана некротическими массами, акустический узел настраивался в резонанс при силе тока J = 30-40 мА, волновод-концентратор находился в озвучивающей жидкости 5-7 минут. При наличии в ране грануляций, фибрина, акустический узел настраивался в резонанс при силе тока J = 10-12 мА, продолжительность процедуры кавитации составляла 3-5 минут (85).

По мере нагревания или помутнения озвучиваемой жидкости проводилась ее смена. Для удержания жидкости в случаях плоских ран или особенного расположения очага, а также создания необходимого объема озвучиваемой жидкости, использовалась модифицированная насадка, (рацпредложение №176 от14.02.2003). При необходимости операция завершалась дренированием гнойной полости пластинчатым резиновым дренажем.

2.6. Методы статистической обработки.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с учетом формы распределения изучаемого показателя, используя параметрический критерий Стьюдента, с помощью программного комплекса «Exell» на компьютере «Pentium IV». (54)

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность к.м.н., заслуженному врачу РФ Круглому В.И. и заведующей отделением ультразвуковой диагностики Детской областной больницы города Орла Бодровой Т.Н. за консультацию и помощь, оказанные при выполнении клинической части работы.

ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ.

Усиленный интерес к изучению регуляторных пептидов объясняется их ведущей ролью в процессах становления и регуляции иммунитета, в патогенезе ряда заболеваний иммунной природы, все более широким применением их в клинике в качестве иммунокорригирующих препаратов.

Накопленные за последнее десятилетие данные о влиянии различных иммунорегуляторных пептидов на механизмы, определяющие развитие воспалительных реакций, достаточно многочисленны и, порой, противоречивы, что обосновывает актуальность дальнейшего изучения их плейотропного действия на различные клетки-мишени (52, 140, 188, 198, 234, 216, 255).

Учитывая вышеизложенное, представляло интерес исследовать влияние препаратов эндогенных иммунорегуляторных пептидов на функциональную активность нейтрофилов здоровых детей и с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

В качестве препаратов иммунорегуляторных пептидов были выбраны препарат Миелопид, представляющий собой композит гетерологичных миелопептидов, и препарат Суперлимф с активностью цитокинов МИФ, ИЛ-1,2,6, ФНО-α и ТФР-β.

3.1. Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на экспрессию мембранных рецепторов нейтрофилов.

Известно, что важными показателями функционирования нейтрофилов является характеристика поверхностных рецепторов, трансформирующих внешние сигналы в те или иные клеточные реакции. К наиболее значимым мембранассоциированным молекулам принадлежат

C3bR (CD11b) и FcRIII (CD16), которые опосредуют участие нейтрофилов в фагоцитарной, цитотоксической и адгезивной функциях, а также Fas/APO-1/ CD95 антиген, принимающий сигнал к индукции апоптоза (4, 102, 194, 247).

Возможность модификации экспрессии поверхностных рецепторов нейтрофилов под действием отдельных иммунорегуляторных пептидов в последние годы активно изучается. В связи с этим представляло интерес исследовать влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на рецепторный аппарат нейтрофилов здоровых детей и с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

Для оценки экспрессии поверхностных рецепторов CD11b и CD16, нейтрофилы периферической крови и смывов из очага воспаления, выделенные по вышеприведенной методике, в концентрации 2 млн./мл инкубировали в течение 3 часов в сывороточной среде RPMI-1640 с препаратом Суперлимф (5, 10 мкг/мл) или Миелопид (30, 60 мкг/мл) в присутствии зимозана (3 мкг/мл) в лунках 96-луночных планшетов при 37°C в атмосфере 5% CO_2. В контрольные лунки изучаемые препараты не вносились. По окончании срока культивирования, планшет центрифугировали при 2000 об./мин. 3 минуты, удаляли супернатанты и трижды отмывали клетки средой 199 («Финбио», Россия). Для решения вопроса о влиянии изучаемых препаратов на экспрессию (CD95) Fas рецепторов нейтрофилов периферической крови здоровых и больных, нами проведены экспериментальные исследования, согласно методике (см. Гл. 2).

Фенотип лимфоцитов и нейтрофилов определяли в иммунофлюоресцентном тесте с использованием FITC и фикоэритрин меченных моноклональных антител (ОО «Сорбент», г. Москва), согласно прилагаемым инструкциям и рекомендациям (159).

Результатами экспериментов установлено (табл. 4), что инкубация нейтрофилов крови здоровых детей с препаратом Суперлимф (5, 10 мкг/мл) in vitro сопровождалась достоверным усилением спонтанной и снижением зимозан-индуцированной экспрессии CD11b, CD16 – маркеров. В тоже время внесение Суперлимфа, а также Миелопида, в изучаемых концентрациях в культуру нейтрофилов пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей приводило к повышению количества клеток, экспрессирующих цитолитический рецептор CD16 (табл. 5).

Установлена также способность изучаемых препаратов ингибировать спонтанную и зимозан-индуцированную экспрессию адгезивных молекул (CD11b) нейтрофилами периферической крови больных, что может иметь важное значение в предотвращении β_2–интегринзависимой цитотоксичности (табл. 5, 7). Как видно из таблиц, наиболее выраженный эффект наблюдался при использовании дозы Суперлимфа 10 мкг/мл, Миелопида – 60 мкг/мл.

Таблица 4.

Влияние препарата Суперлимф на фенотип нейтрофилов крови здоровых детей (n =18).

Показатель (%)	Здоровые дети					
	К1	К2	I	II	III	IY
CD16	70,5±1,2	95,9±0,5**	84,1±1,1*	87,8 ±1,7*	75,3±1,7*	79,8±1,3*
CD11b	77,5±1,1	89,7±1,3**	82,3±0,4*	85,9±0,6*	80,5±1,1*	81,9±1,2*

Примечание: здесь и на табл.5. – К1 – клетки без обработки зимозаном и препаратом; К2 – клетки, индуцированные зимозаном; I - клетки, обработанные зимозаном и Суперлимфом (5 мкг/мл); II - клетки, обработанные зимозаном и Суперлимфом (10 мкг/мл); III - клетки, обработанные Суперлимфом (5 мкг/мл); IY - клетки, обработанные Суперлимфом (10 мкг/мл); * - $p<0,01$; ** - $p<0,001$.

Таблица 5.

Влияние препарата Суперлимф на фенотип нейтрофилов периферической крови детей с ГВЗ мягких тканей.

(n =15).

Показатель (%)	Дети с ГВЗ мягких тканей					
	K1	K2	I	II	III	IY
CD16	54,3±1,2	67,4±1,5**	71,1±1,1*	77,8 ±1,3*	60,3±1,7*	69,5±1,1*
CD11b	88,5±1,3	90,4±1,9*	86,5±0,4*	79,7±0,9*	86,2±1,1	81,4±1,2*

Таблица 6.

Влияние препарата Миелопид на фенотип нейтрофилов крови здоровых детей (n =16).

Показатель (%)	Здоровые дети					
	K1	K2	I	II	III	IY
CD16	71,3±1,1	94,7±2,5**	93,1±3,2	87,8 ±2,7	72,1±2,3	71,8±2,1
CD11b	76,8±1,2	90,3±1,9**	92,1±2,4	85,9±1,6	75,5±1,5	77,9±1,2

Примечание: здесь и на табл. 7. – K1 – клетки без обработки зимозаном и препаратом; K2 – клетки, индуцированные зимозаном; I - клетки, обработанные зимозаном и Миелопидом (30 мкг/мл); II - клетки, обработанные зимозаном и Миелопидом (60 мкг/мл); III - клетки, обработанные Миелопидом (30 мкг/мл); IY - клетки, обработанные Миелопидом (60 мкг/мл); * - p<0,01; ** - p<0,001

При изучении влияния Миелопида на рецепторный аппарат нейтрофилов крови здоровых детей не выявлено достоверно значимого изменения спонтанной и индуцированной экспрессии CD11b, CD16 (табл. 6).

Таблица 7.

Влияние препарата Миелопид на фенотип нейтрофилов периферической крови детей с ГВЗ мягких тканей (n =16).

Показатель (%)	Дети с ГВЗ мягких тканей					
	К1	К2	I	II	III	IY
CD16	54,3±1,2	67,4±1,5**	72,3±2,2*	76,9 ±1,6*	61,1±1,2*	67,7±0,4*
CD11b	88,5±1,3	90,4±1,9*	84,1±1,1*	79,1±1,8*	85,9±2,1	80,1±1,1*

Известно, что при гнойно-воспалительных заболеваниях наблюдается избыточный апоптоз нейтрофилов, который развивается в ответ на действие патогенных микроорганизмов и их токсинов, медиаторов, лекарственных средств, и приводит к ослаблению антимикробной защиты организма (3, 2, 109, 184, 44, 79, 238, 271).

В связи с этим, представляют интерес полученные данные о влиянии препаратов Суперлимф и Миелопид на Fas-экспрессию нейтрофилов.

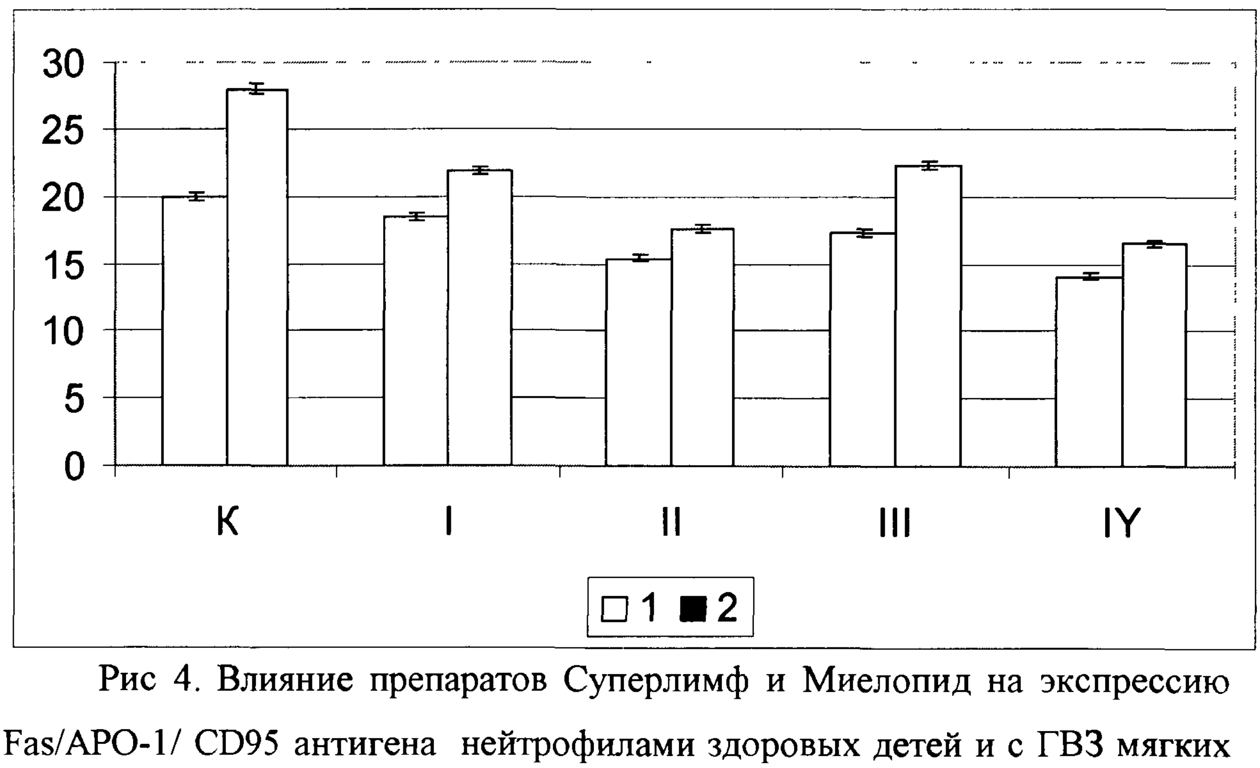

Рис 4. Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на экспрессию Fas/APO-1/ CD95 антигена нейтрофилами здоровых детей и с ГВЗ мягких тканей.

Примечание: здесь и на рис. 5, по оси абсцисс: I – доза Суперлимфа 5 мкг/мл; II – доза Суперлимфа 10 мкг/мл; III – доза Миелопида 30 мкг/мл;

IY – доза – доза Миелопида 60 мкг/мл. К – контроль (внесены клетки, необработанные препаратом). 1 – здоровые дети; 2 – дети с ГВЗ мягких тканей; по оси ординат - % CD95+ нейтрофилов; p< 0,01 по сравнению с контролем.

Результатами экспериментов установлено, что инкубация нейтрофилов крови здоровых и больных детей с препаратом Суперлимф (5, 10 мкг/мл) или Миелопид (30, 60 мкг/мл) in vitro в течение 24 часов, приводила к достоверному снижению числа CD95+ клеток и носила дозозависимый эффект, т.е. наиболее была выражена в дозе 10 мкг/мл (для Суперлимфа) и 60 мкг/мл (для Миелопида).

При этом следует отметить, что антиапоптотическое действие препаратов сочеталось с их праймирующей активностью в отношении экспрессии CD16 регуляторных молекул, уровень которых на апоптозных нейтрофилах, согласно данным литературы, значительно снижается (140, 103).

Как известно, экссудативные нейтрофилы, локализующиеся в зоне воспаления, по ряду морфологических и функциональных характеристик отличаются от нейтрофилов крови (46, 103, 247).

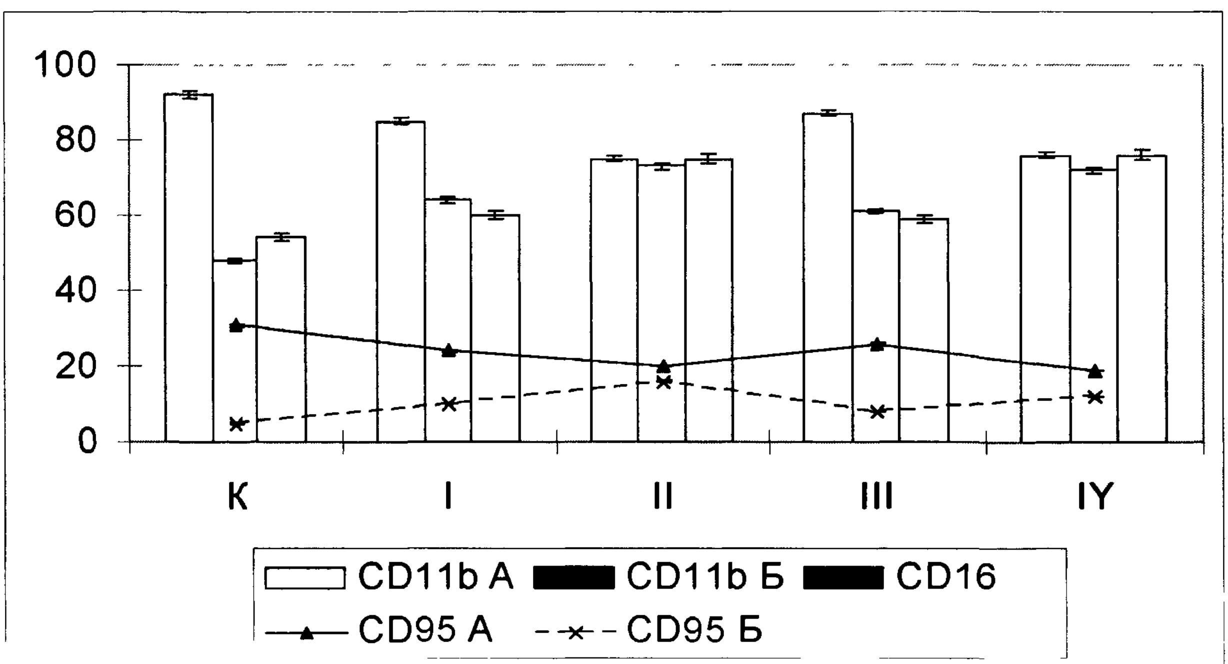

Рис 5. Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на спонтанную

экспрессию CD11b, CD16, CD95 экссудативными нейтрофилами детей с ГВЗ мягких тканей

Примечание: по оси ординат – % клеток, экспрессирующих исследуемый маркер; p<0,01 по сравнению с контролем; А – исходно повышенные показатели; Б – исходно сниженные.

При сравнении мембранного фенотипа нейтрофилов крови и полостных смывов у детей с ГВЗ установлено, что показатели экспрессии CD11b и CD95 маркеров нейтрофилов смывов были значительно выше (рис. 5), что, вероятно, связано с повышенной концентрацией медиаторных молекул в зоне воспаления, приводящих к чрезмерной активации экссудативных нейтрофилов. Однако, в 10% случаев было выявлено снижение числа CD11b и CD95+ нейтрофилов в смывах, что может быть обусловлено исходным нарушением экспрессии данных рецепторов, а также накоплением в зоне воспаления ингибиторов апоптоза и хемоаттрактантов.

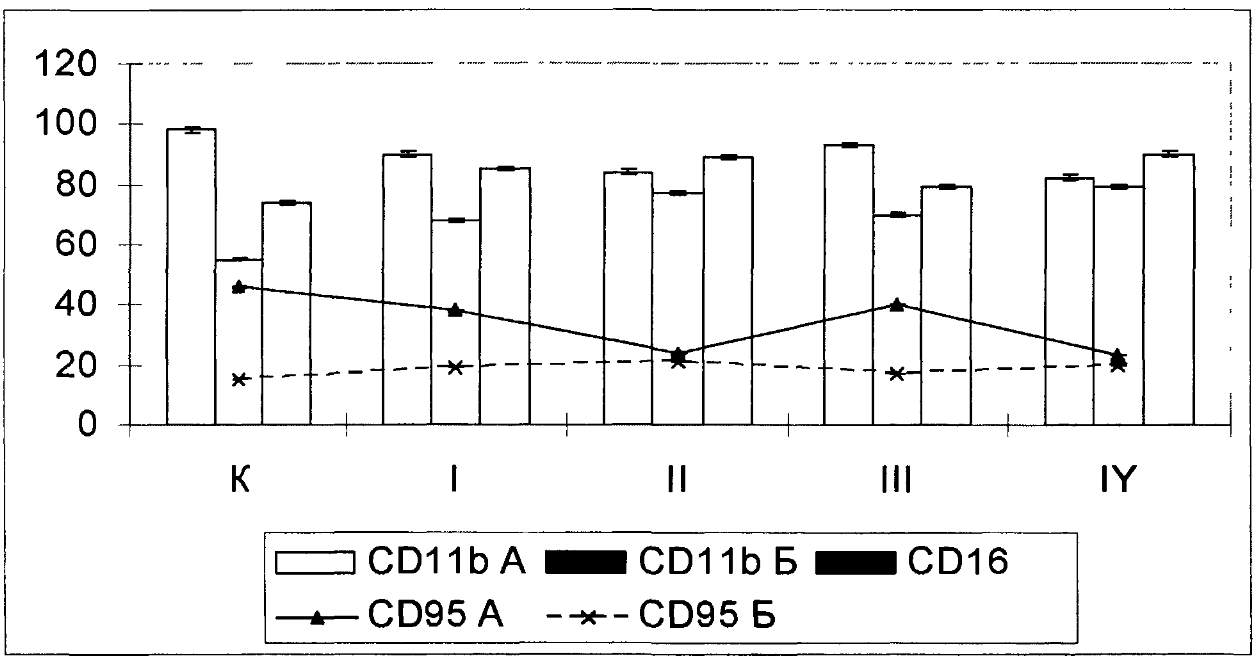

Рис 6. Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на зимозан-индуцированную экспрессию CD11b, CD16, CD95 экссудативными нейтрофилами детей с ГВЗ мягких тканей.

Кроме того, у большинства детей с ГВЗ в полостных смывах на 22-25% снижалось количество нейтрофилов, несущих маркер цитотоксичности CD16, с чем может быть связано затруднение элиминации патогена из очага повреждения.

Обработка экссудативных нейтрофилов препаратами Суперлимф или Миелопид в изучаемых концентрациях приводила к «выравниванию» экспрессии поверхностных маркеров: повышению исходно сниженной и снижению исходно повышенной до уровня показателей здоровых детей (рис. 4, 6).

Таким образом, проведенные эксперименты свидетельствуют о том, что препараты Суперлимф и Миелопид могут оказывать модулирующее действие на экспрессию мембранных рецепторов нейтрофилов, что обеспечивает возможность восстановления их функциональной активности, и, прежде всего, реактивности к рецепторзависимым стимулам.

3.2. Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на продукцию цитокинов нейтрофилами.

В настоящее время установлена важная роль нейтрофилов и продуцируемых ими медиаторов в патогенезе различных гнойно-воспалительных заболеваний. Известно, что цитокинобразующая функция нейтрофилов значительно расширяет их эффекторный потенциал и во многом определяет течение и исход воспалительного процесса (46, 125, 213, 264, 262).

Значительный интерес в этой связи представляет ряд экспериментальных и клинических данных о регулирующем действии пептидов иммунной системы на синтез и секрецию нейтрофилами цитокинов, инициирующих воспалительную реакцию и острофазовый ответ организма (109, 177, 184, 102, 238, 206).

С учетом этого, нами изучено влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на продукцию цитокинов нейтрофилами периферической крови и очага воспаления при ГВЗ мягких тканей у детей.

Для определения способности клеток к продукции цитокинов взвесь нейтрофилов, полученных из крови или полостных смывов, в концентрации 2 млн./мл инкубировали в течение часа в сывороточной среде RPMI-1640 с препаратом Суперлимф или Миелопид в лунках 96 - луночных планшетов при 37°C в атмосфере 5% CO_2. В качестве индуктора синтеза цитокинов использовали ФГА (фитогемагглютинин, «Difco», США) в концентрации 10 мкг/мл. По окончании инкубации клетки в планшетах трижды отмывали от препарата средой 199, ресуспендировали в полной среде RPMI-1640 в объеме 100 мкл и культивировали в стандартных условиях в течение 18 часов. Для исследования брали супернатанты нейтрофилов, полученные путем десятиминутного центрифугирования культуральной смеси при 1500 об./мин. Концентрацию цитокинов ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α определяли методом твердофазного ИФА с помощью коммерческих тест – систем «Протеиновый контур» и «Цитокин» (г. Санкт-Петербург).

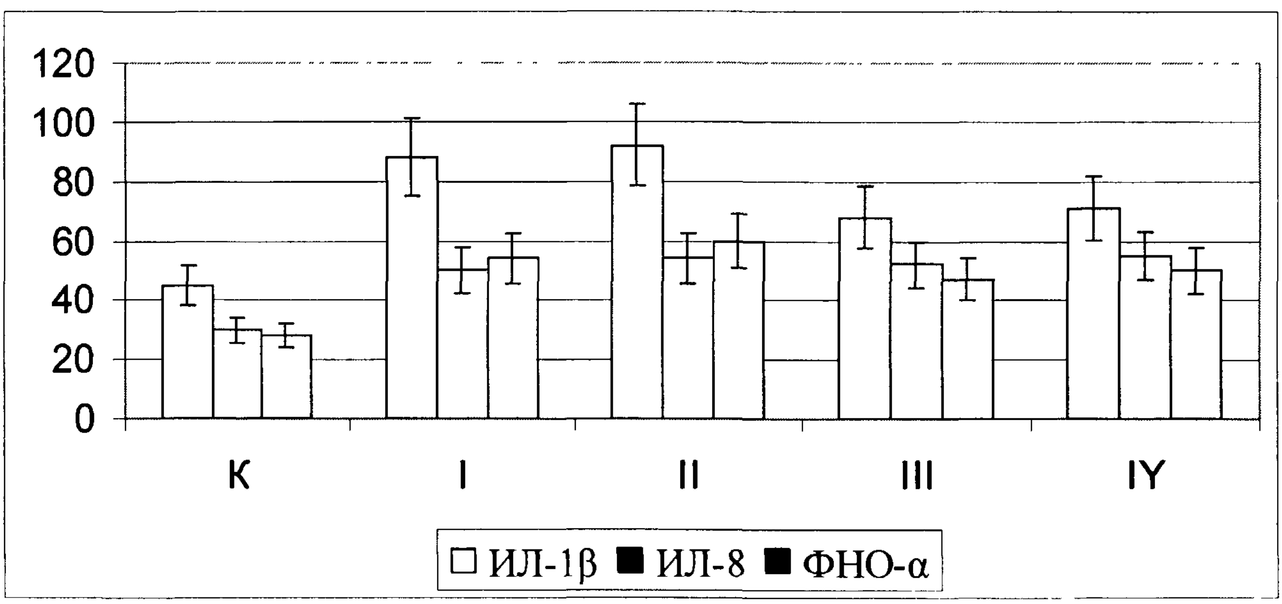

Рис. 7. Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на спонтанную продукцию цитокинов нейтрофилами крови здоровых детей.

Примечание: здесь и на рис. 8, по оси абсцисс: I – доза Суперлимфа 5 мкг/мл; II – доза Суперлимфа 10 мкг/мл; III – доза Миелопида 30 мкг/мл; IY – доза – доза Миелопида 60 мкг/мл. К – контроль (внесены клетки, необработанные препаратом). По оси ординат – концентрация цитокинов пкг/мл; р<0,01 по сравнению с контролем.

Таблица 8.

Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на ФГА-индуцированную продукцию цитокинов нейтрофилами крови здоровых детей. (n =18).

Показатель Пкг/мл	Здоровые дети				
	К	I	II	III	IY
ИЛ-1β	92,5±13,2	94,1±8,8	95,8 ±4,7	93,3±2,7	94,8±3,3
ИЛ-8	97,5±10,5	102,3±9,4	100,9±5,6	98,5±5,1	99,4±4,2
ФНО-α	66,4±5,1	70,5±7,1	70,8±5,2	69,2±4,1	72,5±5,5

Примечание: здесь и в табл. 9: I – доза Суперлимфа 5 мкг/мл; II – доза Суперлимфа 10 мкг/мл; III – доза Миелопида 30 мкг/мл; IY – доза – доза Миелопида 60 мкг/мл. К – контроль (клетки, необработанные препаратом, с внесением ФГА).

Установлено, что внесение препаратов в культуру нейтрофилов здоровых детей приводило к усилению спонтанной продукции ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α, что, вероятно, связано с праймирующим действием регуляторных пептидов (табл. 8). Как видно из рис. 7, дозовой зависимости при использовании Суперлимфа и Миелопида выявлено не было. Кроме того, наблюдалась тенденция к стимуляции ФГА-индуцированного синтеза исследуемых провоспалительных цитокинов.

Исследования концентраций цитокинов в супернатантах клеток больных (рис. 8, 9, табл. 9) позволили выявить иммуномодулирующее действие препаратов на нейтрофилы: повышение исходно сниженной, по сравнению со здоровыми детьми, спонтанной и стимулированной продукции ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α и снижение – исходно повышенной, что может иметь важное значение для элиминации микроорганизмов из очага инфекции и полноценного завершения воспалительного процесса.

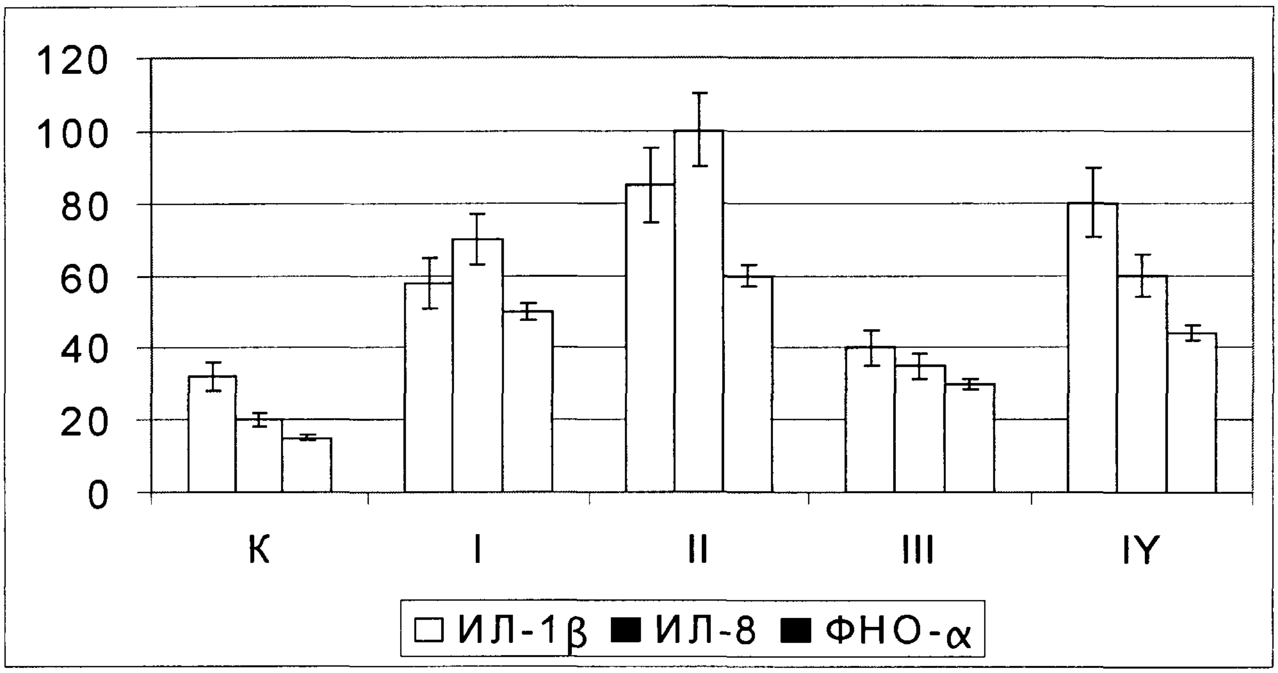

Рис. 8 Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на спонтанную продукцию цитокинов нейтрофилами крови детей с ГВЗ мягких тканей (исходно сниженный уровень цитокинов, по сравнению со здоровыми детьми).

Таблица 9.

Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на ФГА-индуцированную продукцию цитокинов нейтрофилами крови детей с ГВЗ мягких тканей.

Показатель Пкг/мл	Дети с ГВЗ мягких тканей (n =18).				
	К	I	II	III	IY
ИЛ-1β	295,5±10,2	165,5±12,8**	140,5 ±10,5**	193,3±20,5**	154,5±13,3**
	56,4±5,5	76,4±6,5**	92,4±5,5**	70,4±3,5*	96,6±8,2**
ИЛ-8	177,5±10,5	108,3±9,4**	100,9±5,6**	99,5±5,1**	97,4±4,2**
	48,4±4,2	86,4±6,2**	104,5±3,5**	50,2±5,1**	80,4±5,2**
ФНО-α	89,4±6,6	68,5±3,3*	52,8±3,2**	69,2±2,1*	50,5±3,5**
	35,2±4,1	70,4±6,2**	76,8±4,8**	56,6±5,4**	70,8±8,2**

Примечание: * p<0,05 ,** - p<0,01 по сравнению с контролем.

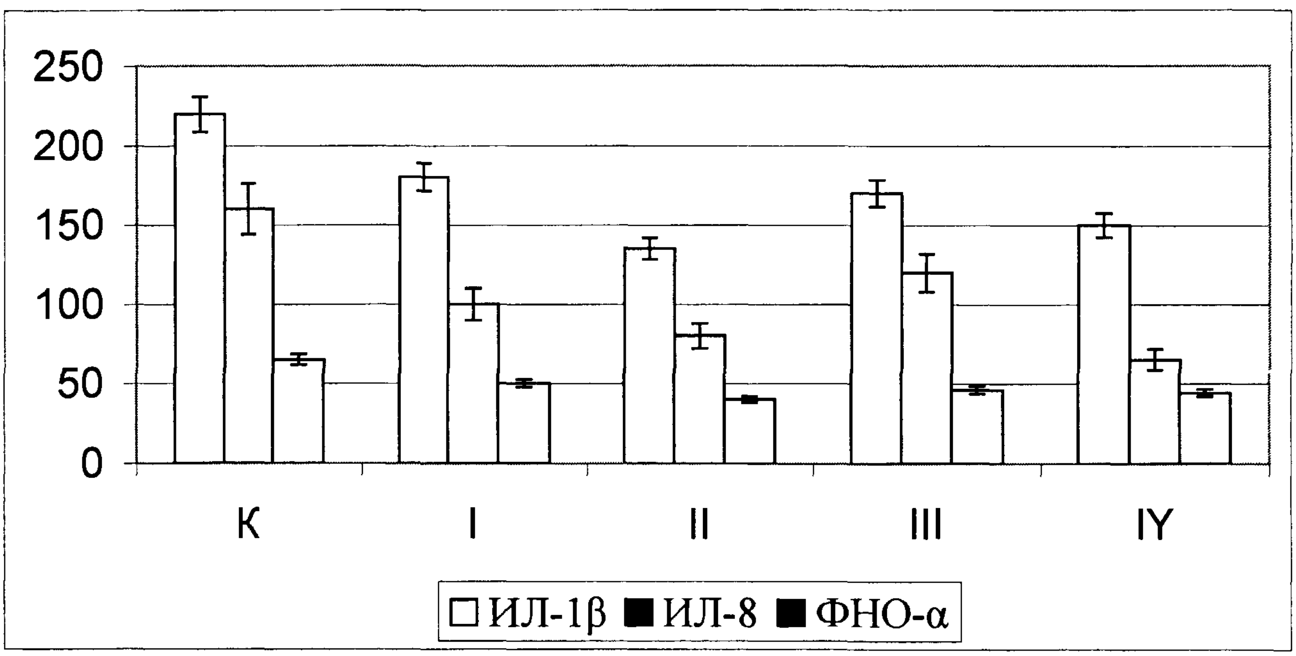

Рис. 9 Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на спонтанную продукцию цитокинов нейтрофилами крови детей с ГВЗ мягких тканей (исходно повышенный уровень цитокинов, по сравнению со здоровыми

детьми).

Как видно из рис. 10, 11, аналогичная зависимость наблюдалась при действии Миелопида и Суперлимфа на экссудативные нейтрофилы, что свидетельствует о возможности патогенетически значимой коррекции изучаемыми препаратами продукции ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α клетками очага воспаления.

При этом следует отметить, что эффект препаратов в обоих случаях был более выражен при использовании Суперлимфа в дозе 10 мкг/мл, Миелопида 60 мкг/мл.

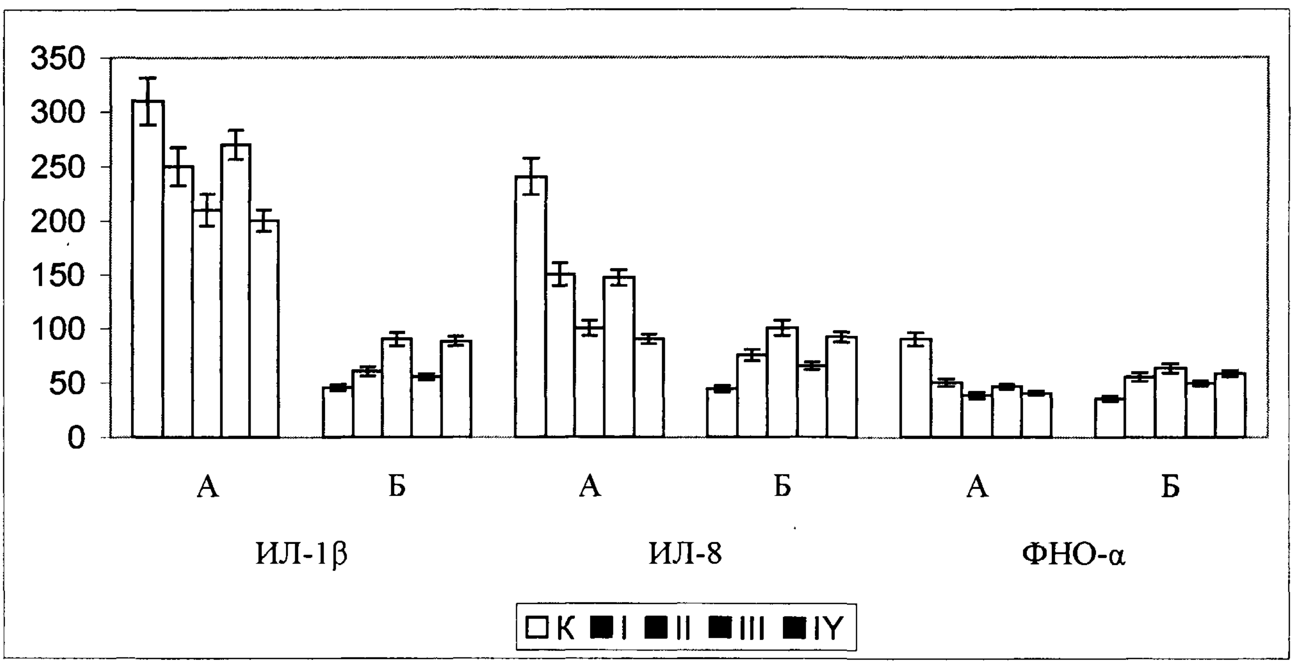

Рис. 10 Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на спонтанную продукцию цитокинов экссудативными нейтрофилами.

Примечание: здесь и на рис. 11. А – исходно повышенные показатели; Б – исходно сниженные.

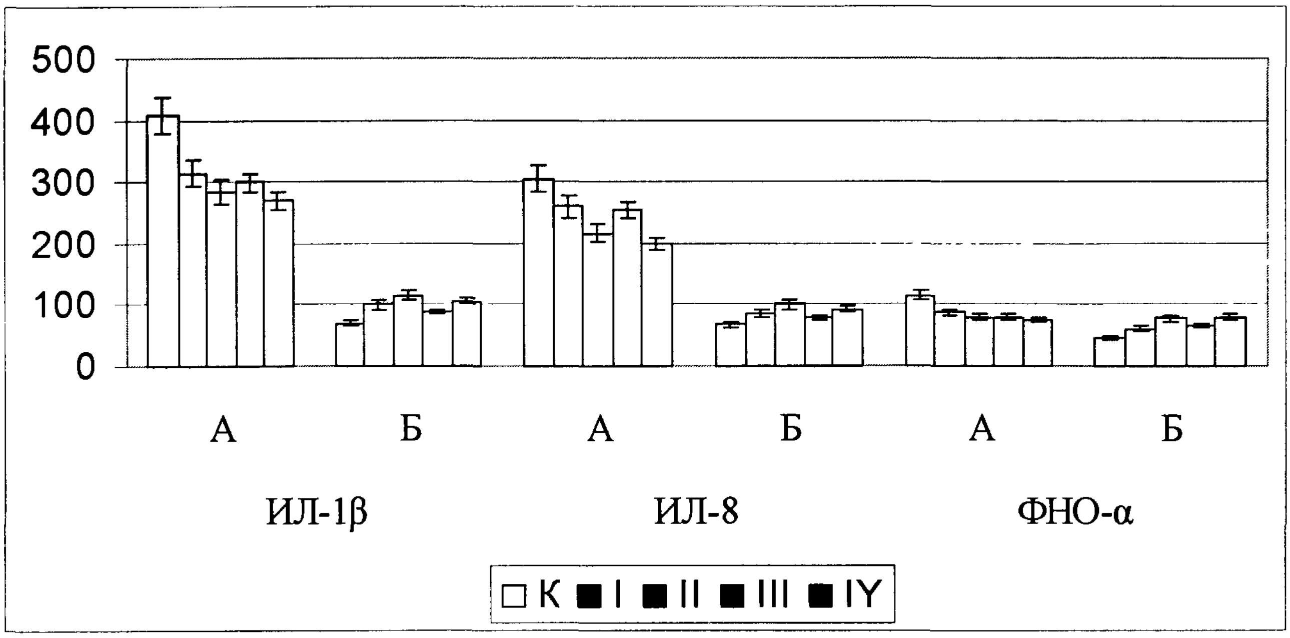

Рис. 11 Влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на ФГА-индуцированную продукцию цитокинов экссудативными нейтрофилами.

Таким образом, проведенные исследования показали, что изучаемые препараты в оптимальных концентрациях оказывают иммуномодулирующее действие на цитокинопродукцию и рецепторный аппарат нейтрофилов. Это послужило экспериментальным обоснованием местного применения препаратов Суперлимф и Миелопид в комплексном лечении детей с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей, а также разработки показаний к проведению локальной иммунокоррекции и оценки ее клинической эффективности.

ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ В СОЧЕТАНИИ С УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАВИТАЦИЕЙ У ДЕТЕЙ С ГВЗ МЯГКИХ ТКАНЕЙ.

В настоящее время для лечения ГВЗ мягких тканей используются различные хирургические методы и способы, антимикробные и ранозаживляющие препараты (43, 97, 87, 32, 164, 191). Однако высокий процент инфекционных осложнений у больных, особенно детского возраста, развитие резистентности микроорганизмов к используемым лекарственным препаратам, снижение общей и местной иммунной реактивности организма требуют дальнейшего изучения, разработки и усовершенствования методов лечения (134, 115, 48).

Работами ряда авторов показана высокая клиническая эффективность локальной иммунокоррекции при лечении раневых процессов различной этиологии, при гнойно-воспалительных заболеваниях легких, ЛОР-органов и др. (95, 28, 78, 181, 140).

Как известно, в патогенезе гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей важную роль имеет иммунная дисфункция, всегда сопровождающая инфекционный процесс (183, 55, 167, 21, 224).

Учитывая это, нами экспериментальна была изучена возможность локального применения препаратов регуляторных пептидов (Суперлимф и Миелопид) у подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

Выше приведенными исследованиями (см. Гл. 3) было показано, что препараты Суперлимф и Миелопид оказывают дозозависимое влияние на функциональную активность нейтрофилов периферической крови и очага воспаления, патогенетически значимо модулируя их провоспалительные эффекты: экспрессию мембранных рецепторов CD11b, CD16, CD95; продукцию цитокинов (ИЛ-1β, ФНО-α, ИЛ-8).

На основании полученных результатов экспериментальных исследований, а также данных литературы о влиянии иммунорегуляторных пептидов и низкочастотного ультразвука на течение острого воспалительного процесса, нами изучена клиническая эффективность локальной иммунокоррекции и ультразвуковой кавитации у подростков с ГВЗ мягких

Под нашим наблюдением находилось 132 больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей, которые были распределены на четыре группы: первую группу составили 76 пациентов, получавших традиционную терапию, вторую группу - 13 больных, которым в дополнение к традиционной терапии проводилось УЗК с физиологическим раствором, третью группу - 22 больных, получавших локальную иммунокоррекцию препаратом Суперлимф в сочетании с УЗК, четвертую группу - 21 больной, получавший локальную иммунокоррекцию препаратом Миелопид в сочетании с УЗК.

Во все группы были включены больные, от 14 до 16 лет (средний возраст в I группе - 14,8±0,4 лет, II группе – 14,3±0,2лет, III группе – 14,1±0,5лет, IV группе – 14,2±0,1 лет); сопоставимые по полу и характеру патологического процесса.

Эффективность лечения оценивали в баллах по выраженности системных и локальных симптомов гнойно-воспалительного процесса в мягких тканях. При этом учитывали: общее состояние; температуру тела и длительность лихорадочного периода; количество и характер раневого отделяемого; боль, припухлость, гиперемию, нарушение функции в очаге поражения; число лейкоцитов в периферической крови и показатели СОЭ (Гл. 2, табл. 3). В соответствии с интенсивностью проявления каждый признак шкалировали от 0 до 4 баллов. Совокупная оценка выраженности патологического процесса в мягких тканях выше 25 баллов соответствовала высокой степени активности, 17,5-25 – умеренной, ниже 17,5 – незначительной.

Всем больным проводилась традиционная терапия, включавшая вскрытие, дренирование и санацию гнойных очагов, комбинированную общую и местную антибактериальную, дезинтоксикационную терапию и симптоматическое лечение. Больным третей и четвертой групп выполнялись те же лечебно-диагностические мероприятия, что и больным первой группы, с дополнительным включением в программы лечения локальной иммунокоррекции в сочетании с УЗК. Больные второй группы дополнительно к традиционной терапии получали УЗК с физиологическим раствором.

ЛИ и УЗК выполнялась интраоперационно и в послеоперационном периоде ежедневно в течение 3-5 дней до полного заживления раны. Противопоказанием к использованию ЛИ и УЗК являлась индивидуальная непереносимость или аллергическая реакция пациента на компоненты озвучиваемой жидкости.

Ультразвуковая кавитация проводилась на аппарате УРСК 7Н 18 в режиме резонансной частоты (26,5 кГц), с обязательной 3-4 кратной сменой раствора за время сеанса (87). В качестве озвучиваемой жидкости для процедуры локальной иммунокоррекции использовали 50 мл физиологического раствора, содержащего препарат Суперлимф (2 мкг/мл) или Миелопид (60 мкг/мл). Добавление в раствор препаратов производилось непосредственно перед проведением процедуры.

Оценка клинической эффективности традиционной и локальной иммунотерапии с препаратами Суперлимф и Миелопид и УЗК показала, что при поступлении выраженность клинических симптомов по сумме баллов у подростков контрольной группы составляла 27,3±1,1 балла, II группы - 26,4±0,9 балла, III и IV групп - 26,9±1,1 и 27,5±1,2 баллов, соответственно (рис.12).

Уже на 3 сутки лечения отмечалась существенная разница в течение воспалительного процесса по динамике клинических симптомов: у подростков, получавших ЛИ с препаратом Суперлимф, - снижение до 11,8±0,5 баллов, с препаратом Миелопид - до 12,2±0,6 баллов, в то время как у пациентов первой и второй групп сумма баллов оставалась на достаточно высоком уровне (17,1±0,7 и 16,2±0,6 балла, соответственно). Как следует из данных, приведенных на рис. 12, к 5-6 суткам ЛИ в сочетании с УЗК у всех пациентов указанные выше симптомы почти полностью регрессировали и достигали значений нормы у большинства подростков (94-96%) к моменту выписки на 6-7 сутки (0,8±0,1 и 0,9±0,1 балла, соответственно). При этом у больных первой и второй групп положительная динамика клинических проявлений по сумме баллов была менее выражена (9,6±0,4 и 8,3±0,4 баллов, соответственно), а купирование воспалительного процесса в мягких тканях происходило только к 10-11 дню (1,3±0,2 и 1,0±0,1 балла, соответственно).

Кроме того, следует отметить, что повышенный суммарный балл выраженности патологического процесса после лечения наблюдался у 11,3% подростков I группы; 9,2% - II; 4,2% и 5,6% III и IV групп, соответственно, и, в основном был обусловлен сохранением повышенных показателей уровня лейкоцитов (до 13×10^9/л) и СОЭ (до 17 мм/ч) в периферической крови у пациентов с сопутствующей соматической патологией.

Анализ результатов показал, что наибольший эффект отмечался в отношении болевого синдрома. На фоне проводимой терапии отмечалась следующая динамика показателя болей: в группе ЛИ с Суперлимфом и УЗК и ЛИ с Миелопидом и УЗК и составила в среднем 2,1±0,2 при поступлении, 1,5±0,4 балла ($p< 0,05$) на 3-и сутки, и 0,2±0,05 балла ($p< 0,05$) на 6-е сутки. В группе с традиционной терапией показатель составил 2,1±0,2 ($p< 0,01$) при поступлении, 1,7±0,3 балла ($p< 0,01$) на 3-и сутки, и 0,6±0,1 балла (p<

0,01) на 6-е сутки. Общий балл выраженности болевого синдрома в группе УЗК с физиологическим раствором значительно снизился до 0,4±0,05 балла (p< 0,01) , приближаясь к значениям в третьей и четвертой группах.

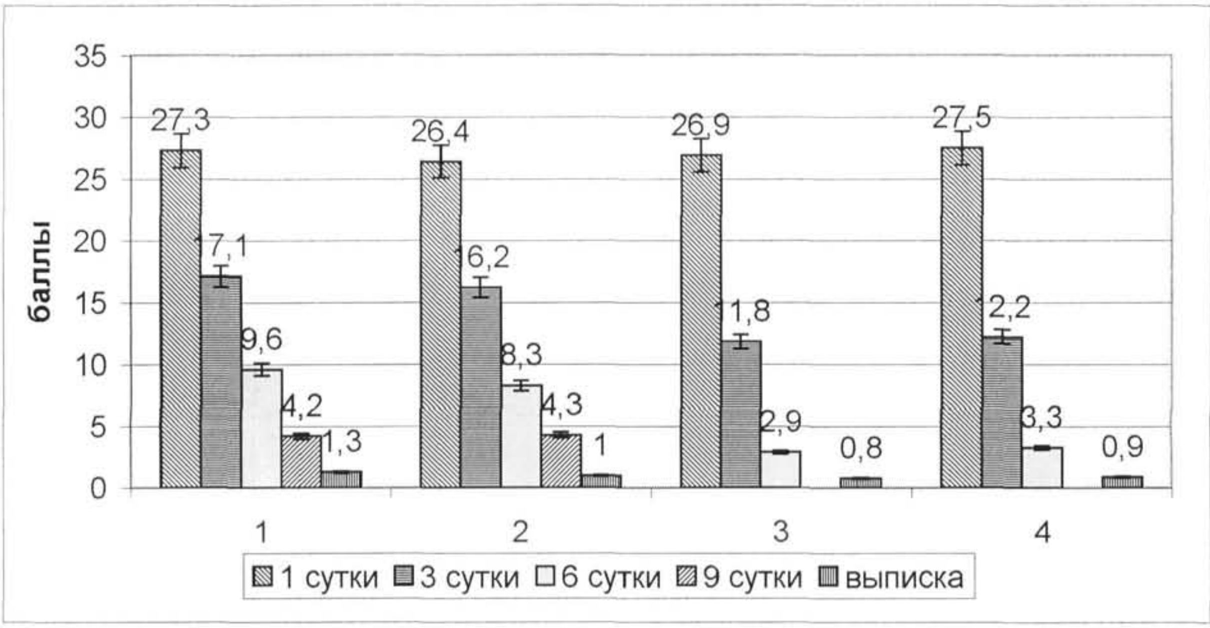

Рис. 12. Динамика клинических симптомов у подростков с ГВЗ мягких тканей. Примечание: 1 - контрольная группа больных; 2 - группа больных, получавших УЗК с физиологическим раствором; 3 - группа больных, получавших ЛИ препаратом Суперлимф и УЗК ; 4 -группа больных, получавших ЛИ препаратом Миелопид и УЗК; p<0,01 достоверность различий внутри групп до и после лечения и по сравнению с контрольной группой.

Следует отметить, что общая слабость и недомогание, снижение аппетита, вялость, сонливость при поступлении выявлялись у 65,7% больных (при поступлении общий балл выраженности симптомов до 3,4±0,2 баллов). В динамике данный показатель в исследуемых группах на третьи сутки составил 1,1±0,3 балла (p< 0,05) в группе ЛИ с Суперлимфом и УЗК; 1,3±0,5 балла (p< 0,05) в группе ЛИ с Миелопидом и УЗК; 1,7±0,2 балла (р< 0,05) у пациентов, получавших УЗК с физиологическим раствором, и 2,1±0,2 балла (р< 0,01) на фоне традиционной терапией. На 6-е сутки показатель во второй, третьей и четвертой группах снизился до 0 баллов, и только в первой группе оставался - 0,3±0,05 балла (р< 0,01).

Повышение температуры тела наблюдалось у большинства больных (у 78,2%), и сохранялось от одного до 14 дней. Средняя продолжительность лихорадочного периода у пациентов, получавших традиционную терапию, составила 2,3±0,5 балла (4,6±0,9 дня), а у пациентов II, III и IV групп он снижался до 1,2±0,7 (1,8±0,3 дня), 1,4±0,5 (2,0±0,4 дня) и 2,1±0,2 баллов (2,4±0,3 дня), соответственно (рис. 13).

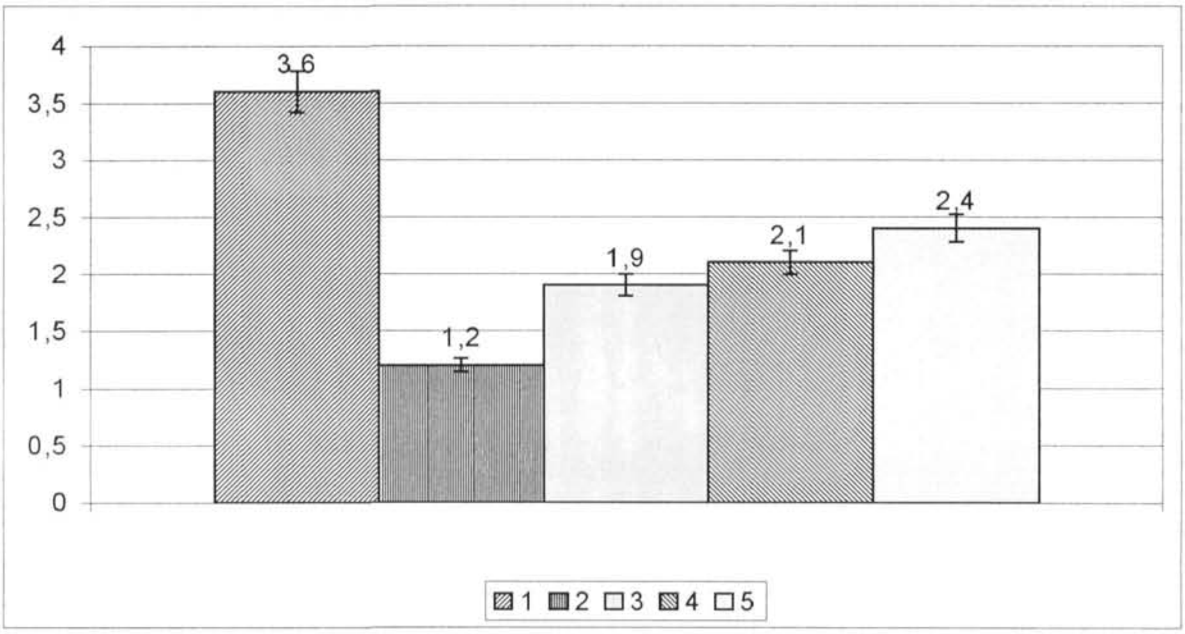

Рис 13. Длительность лихорадочного периода у больных с ГВЗ мягких тканей.

Примечание: 1 – показатель до лечения; 2 – показатель в группе подростков, получавших ЛИ с препаратом Суперлимф и УЗК; 3 – показатель в группе подростков, получавших ЛИ с препаратом Миелопид и УЗК; 4 - показатель в группе подростков, получавших УЗК с физиологическим раствором; 5 – показатель в группе подростков, получавших традиционную терапию; р<0,05 по сравнению с традиционной терапией. По оси абсцисс - показатель длительности лихорадочного периода; по оси ординат – число дней.

Показатель уровня лейкоцитов в периферической крови анализировался на 1, 3, 6, 9 сутки и в день выписки больного. В третьей и четвертой группе количество пациентов с нормальным показателем количества лейкоцитов на третьи сутки составило 18%, а к шестым суткам их число возросло до 64%. На девятые сутки 86% больных имели количество лейкоцитов в периферической крови, соответствующее норме.

Так, по результатам балльной оценки, данные лейкоцитоза при поступлении не имели статистически достоверных различий в анализируемых группах. На третьи сутки лечения было зарегистрировано снижение уровня лейкоцитов в первой группе с 2,4±0,4 до 1,8±0,3 баллов ($p< 0,01$); во второй группе с 2,2±0,2 до 1,6±0,2 баллов ($p< 0,05$); в третьей группе с 2,3±0,3 до 1,3±0,1 баллов ($p< 0,05$); в четвертой группе с 2,3±0,4 до 1,5±0,2 баллов ($p< 0,05$) соответственно. На шестые сутки сохранялась тенденция к снижению уровня лейкоцитов периферической крови у больных всех групп, с полной нормализацией показателей в третьей и четвертой группах у большинства подростков к моменту выписки. При этом у 21% больных первой и второй групп сохранялся лейкоцитоз до 13×10^9/л. При анализе динамики СОЭ была выявлена закономерность, аналогичная показателям уровня лейкоцитов.

Локальные объективные признаки гнойно-воспалительного процесса в мягких тканях до лечения отмечались у всех пациентов: инфильтрация, отек тканей в области гнойного очага - у 87,3% больных, (совокупный показатель в исследуемых группах в среднем составил 2,7±0,4 балла); гиперемия области поражения - у 67,3% (2,4±0,3 балла в первой группе; УЗК 2,5±0,2 балла во второй; 2,3±0,5 балла и 2,5±0,5 балла - в третьей и четвертой группах, соответственно); нарушение функции пораженной области наблюдалось у 64,4% больных, причем у части больных носило разлитой характер, выходя за границы пораженной зоны (средний показатель 2,2±0,3 балла). В 27% случаев выявлялся регионарный лимфаденит, в 16% -лимфангоит, у 8,4% больных - наличие множественных гнойных очагов.

На фоне лечения выраженный эффект отмечался в отношении интенсивности инфильтрации и отека тканей в области гнойного очага - снижение показателя до 1,3±0,1 балла в первой группе ($p< 0,01$); до 0,9±0,2 балла во второй группе ($p< 0,05$); до 0,4±0,05 балла ($p< 0,05$) в третьей группе и 0,7±0,5 балла ($p< 0,05$) в четвертой группе на третьи сутки (рис. 14).

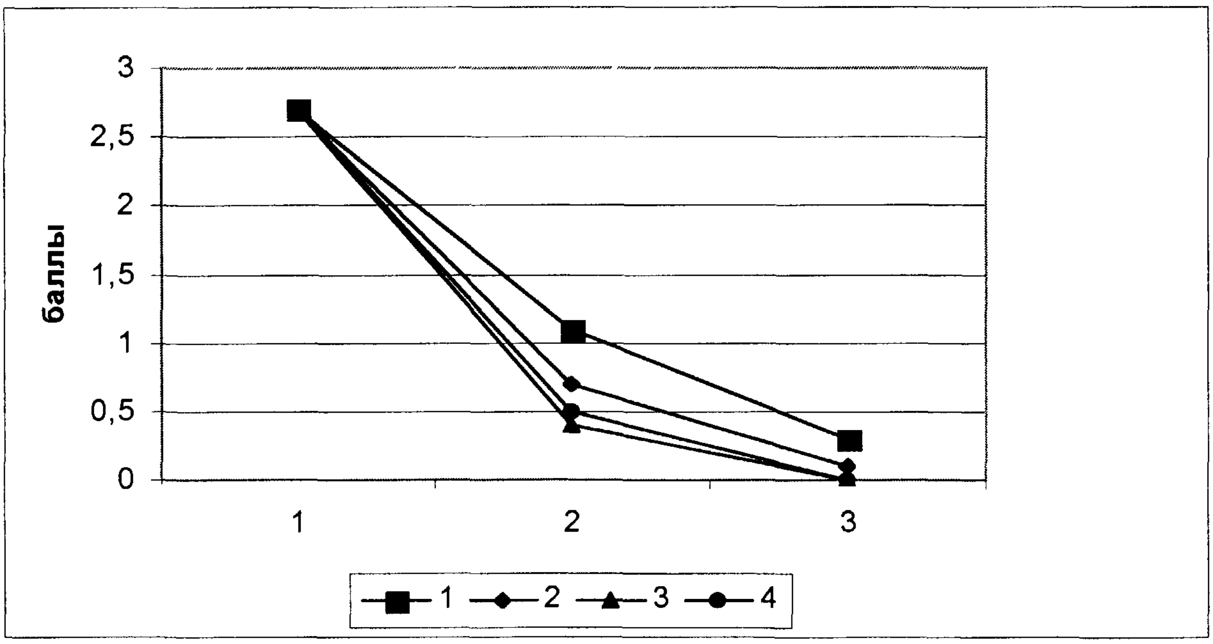

Рис. 14. Динамика выраженности инфильтрации и отека тканей в области гнойного очага.

Примечание: по оси абсцисс: 1 – показатель до лечения; 2 – показатель на 3-и сутки; 3 – показатель на 6-е сутки. 1 – группа больных, получавших традиционную терапию; 2 – группа больных, получавших УЗК с физиологическим раствором; 3 – группа больных, получавших ЛИ с

Суперлимф и УЗК; 4 – группа больных, получавших ЛИ с Миелопид и УЗК; p< 0,01 по сравнению с контролем.

На 6-е сутки данный показатель во второй, третей и четвертой группах составил – 0 баллов и только в 1 группе он оставался повышенным – 0, 3±0,05 балла (p< 0,01) и нормализовался только к моменту выписки.

Выраженность гиперемии на фоне лечения значительно снижалась у всех пациентов и достигала нормы (0 баллов) на шестой день у больных III и IV групп (с 0,4±0,1 балла и 0,5±0,1 балла на третьи сутки (p< 0,05) до 0 баллов на шестые сутки, соответственно), и только на девятые сутки лечения у пациентов I и II групп (снижение с 0,3±0,05 балла и 0,1±0,05 балла (p< 0,05) на шестые сутки до 0 баллов на девятые сутки, соответственно).

Восстановление функции пораженной области на фоне применения ЛИ с Суперлимфом и УЗК происходило к 5-6 суткам лечения (снижение балла выраженности симптома с 1,0±0,2 балла (p< 0,05) до 0 баллов); при использовании ЛИ с Миелопидом и УЗК на 6-7 сутки лечения, а у больных первой и второй групп только к 9-10 суткам (с 1,8±0,4 баллов и 1,4±0,2 баллов (p< 0,05) до 0 баллов, соответственно).

При этом следует отметить, что сочетанное использование ЛИ и УЗК в третьей и четвертой группах позволило в 22% случаев избежать назначения антибиотиков, а также снизить до 2,4% число больных, получавших повторные курсы антибиотикотерапии, что согласуется с данными литературы об антибактериальной активности препаратов Суперлимф и Миелопид (рис. 15,16) (140, 181, 76).

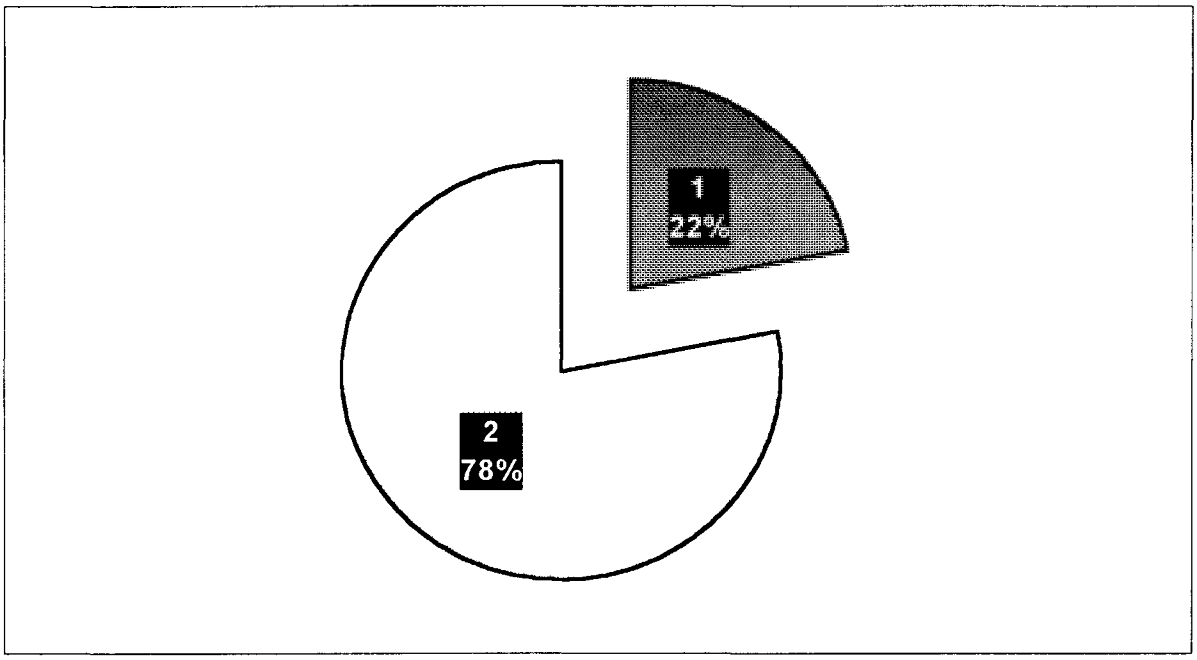

Рисунок 15. Соотношение количества курсов антибиотикотерапии в группах II, III (в процентах от общего числа). Примечание: 1 – без антибиотикотерапии, 2 – получавшие антибиотикотерапию; $p < 0{,}01$.

В группе подростков, получавших традиционную терапию в 17% случаев потребовалась смена антибиотиков, а количество детей, лечение которых было проведено без применения антибиотиков, составило 6,1%.

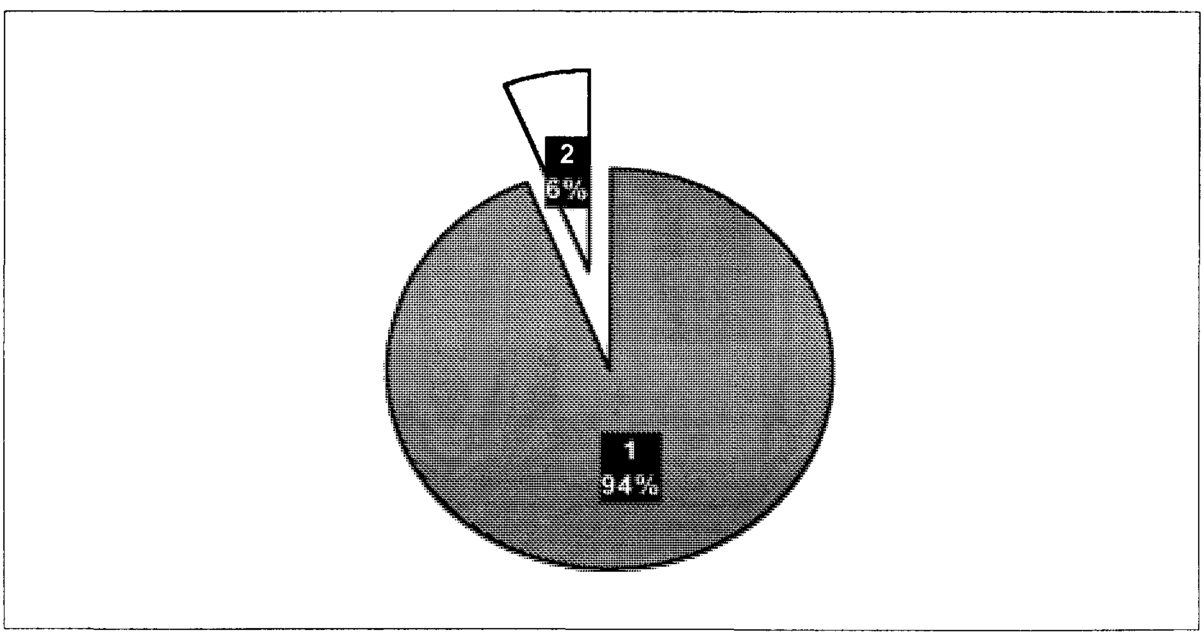

Рисунок 16. Соотношение количества курсов антибиотикотерапии

в группе подростков, получавших традиционную терапию (в процентах от общего числа).

Примечание: 1 – без антибиотикотерапии, 2 – получавшие антибиотикотерапию; p< 0,01.

Общая продолжительность лечения при использовании традиционной терапии и УЗК с физиологическим раствором составляла 9-11 дней (в среднем 9,6±1,0 и 7,6±0,6 дней). У больных III и IV групп лечебная тактика с использованием локальной иммунокоррекции и УЗК приводило не только к более быстрой регрессии клинических симптомов, но и позволила снизить среднюю продолжительность пребывания больных в стационаре до 6,5±0,3 и 6,54±0,4 койко-дней, соответственно, при использовании ЛИ с Суперлимфом и Миелопидом (рис. 17).

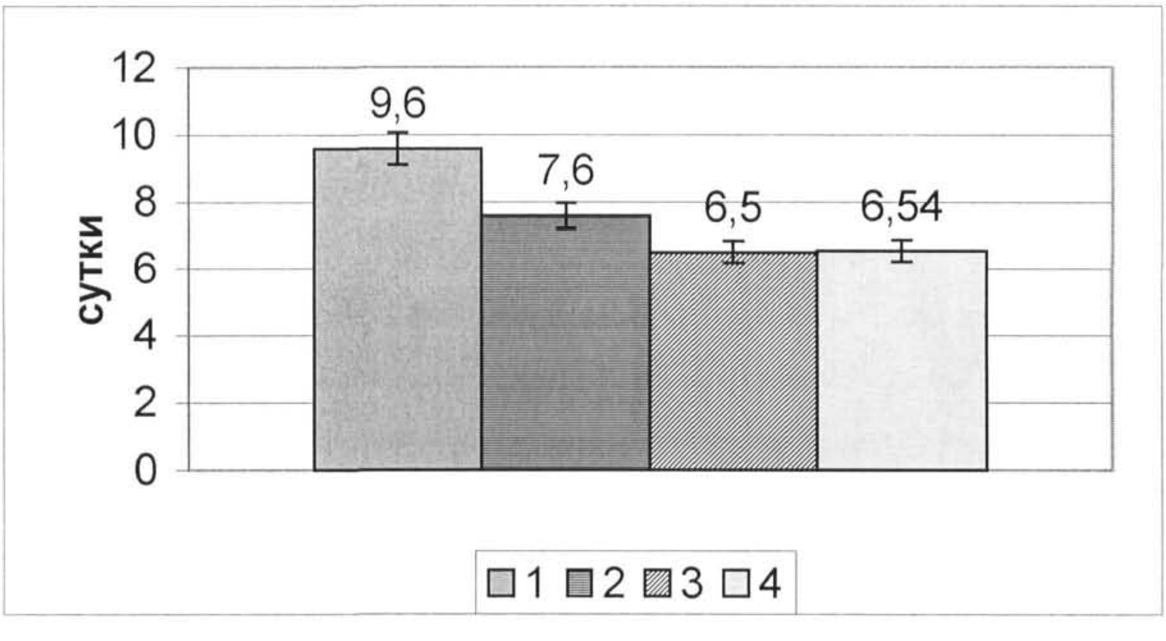

Рис. 17. Количество койко-дней в анализируемых группах. Примечание: 1 – группа традиционной терапии; 2 – группа с УЗК с физиологическим раствором; 3 – группа ЛИ с Суперлимфом и УЗК; 4 – группа ЛИ с Миелопидом и УЗК; p< 0,01 по сравнению с контролем.

Осложнений и летальных исходов ни в одной из анализируемых групп отмечено не было.

Кроме того, следует отметить, что у 2,7% пациентов первой группы с вялым течением раневого процесса и длительно сохраняющимся гнойным или серозно-гнойным отделяемым из раны (свыше 8-9 суток) отмечено появление рецидивов заболевания в срок от 6 до 12 месяцев наблюдения.

Динамика показателей течения раневого процесса у детей с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей на фоне применения локальной иммунокоррекции в сочетании с УЗК.

Как известно, любое гнойно-воспалительное заболевание мягких тканей неизбежно приводит к нарушению целостности элементов соединительной ткани и капилляров, вызывая цепь гистологических событий, характеризующихся последовательным накоплением в ране нейтрофилов, макрофагов и лимфоцитов и, наконец, фибробластов и эндотелиальных клеток – основных участников процессов, воспаления и регенерации (20, 109, 55, 150, 61, 269).

Учитывая полученные данные о более быстрой, по сравнению с традиционной терапией, регрессией локальных проявлений гнойно-воспалительного процесса в мягких тканях на фоне ЛИ с препаратами иммунорегуляторных пептидов, нами была изучена динамика показателей течения раневого процесса на фоне лечения. При этом оценивали: характер и длительность раневого отделяемого, срок появления грануляций, цитологический состав мазков-отпечатков, микробиологическую обсемененность раны по данным цитологического исследования, срок полного заживления раны (табл. 9).

Для цитологического исследования брали мазки-отпечатки с раневой поверхности и анализировали динамику изменения клеточного состава и микробную обсемененность в процессе лечения.

Согласно предложенной методике, оценка эффективности ЛИ в сочетании с УЗК проводилась на 1, 3, 6 сутки и на момент выписки.

Полученные данные позволили нам выделить три степени активности течения локального воспалительного процесса, которые, на наш взгляд, являются наиболее значимыми при оценке клинической эффективности различных методов лечения. Совокупная оценка выраженности локального патологического процесса в 15 – 10 баллов соответствовала высокой степени активности, 10 - 5 - умеренной, менее 5 - незначительной.

Таблица 10.

Оценка выраженности локального гнойно-воспалительного процесса в мягких тканях

Показатель	Баллы			
	3	2	1	0
Характер и количество раневого отделяемого	Гнойное, обильное	Гнойное, умеренное	Серозное, скудное	Отсутствует
Появление грануляций	нет	единичные	Занимают большую часть раны	Рана полностью покрыта грануляциями
Клеточный состав мазков отпечатков с поверхности раны (%)	Нейтрофилы - > 80 Лимфоциты -<4 Макрофаги-< 5 Фибробласты - нет	Нейтрофилы - 70-80 Лимфоциты -4-8 Макрофаги - 5-7 Фибробласты – 0 -1	Нейтрофилы - 70-60 Лимфоциты- 10-13 Макрофаги -8-13 Фибробласты –2-3	Нейтрофилы -< 60 Лимфоциты ->14 Макрофаги ->14 Фибробласты -> 3
Микробная обсемененость (по данным цитологического исследования)	Более 100 колоний	От 50-25 колоний	Менее 25 колоний	отсутствуют
Срок полного заживления раны	Свыше 9 суток	От 6 до 9 суток	От 3 до 6 суток	До 3-х суток

Анализ проведенных исследований (рис. 18) показал, что в первые сутки (после вскрытия и дренирования гнойно-воспалительного очага) суммарный балл показателей течения раневого процесса составил 14,2±0,8 балла в I группе; 13,7±0,6 балла – во II; 12,9+0,5 балла - в III и 13,0±0,6 балла - в IV группе, соответственно.

В первые сутки в мазках-отпечатках у всех больных отмечалось преобладание нейтрофилов, преимущественно дистрофических форм, а также обилие микроорганизмов и детрита (таб. 11).

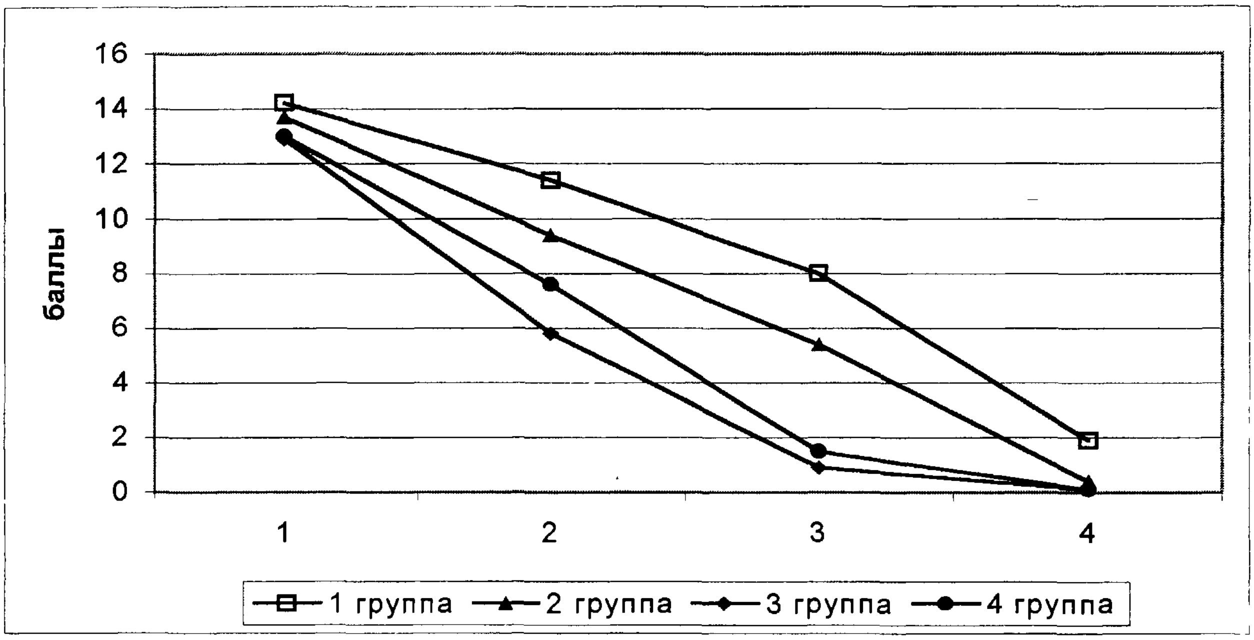

Рис. 18. Динамика показателей выраженности активности локального гнойно-воспалительного процесса на фоне лечения.

Примечание: 1 – 1 сутки; 2 – 3 сутки; 3 – 6 сутки; 4 – выписка.

p< 0,01.

Как уже отмечалось, на третьи сутки лечения у больных, получавших ЛИ в сочетании с УЗК, наблюдалось значительное уменьшение воспалительного процесса в мягких тканях, что отражала динамика выраженности клинических и цитологических показателей: снижение суммарного балла до 5,8±0,2 ($p < 0,05$) в третьей и до 7,6±0,3 ($p < 0,05$) в четвертой группе.

При анализе указанных признаков воспалительного процесса у пациентов, получавших ЛИ с препаратом Суперлимф, отмечено значительное уменьшение количества отделяемого из раны (с 2,8±0,4 балла до 0,6±0,01 баллов ($p < 0,05$); изменение его характера с гнойного на серозное, снижение микробной обсемененности раны (с 3,0±0,4 балла до 1,9±0,3 балла; $p < 0,05$) и улучшение характера цитологической картины мазков-отпечатков, в основном за счет снижения числа нейтрофилов (на 10-12%), увеличения количества макрофагов (на 3-6%) и лимфоцитов (на 5-7%) (табл. 11).

У больных четвертой группы на третьи сутки лечения положительная динамика была менее выражена, а в контрольных группах (с применением традиционной терапии и УЗК с физиологическим раствором) практически отсутствовала (разница суммы баллов выраженности симптомов по сравнению с данными в первые сутки составила 5,4 балла ($p < 0,01$); 2,8 балла ($p < 0,05$) и 4,3 балла ($p < 0,05$), соответственно).

На шестые сутки лечения у больных третьей группы отмечалось почти полное купирование воспалительного процесса в ране: очищение от некротических тканей, отсутствие раневого отделяемого, заполнение раневой поверхности грануляционной тканью, уменьшение площади раны, снижение числа микробных колоний в мазках-отпечатках и наличие в них клеток, свидетельствующих о процессе регенерации тканей (фибробластов до 1,4±0,2, макрофагов до 13,0±2,8).

При этом у пациентов четвертой группы положительная динамика симптомов была менее выражена и составила в сумме 1,5±0,1 балл ($p < 0,05$).

Таблица 10.

Динамика цитологических показателей раневого отделяемого ($p<0,01$).

Клетки %	1-е сутки				3-и сутки				6-е сутки				выписка			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Нейтрофилы	86,7± 5,1	86,6± 5,3	86,6± 4,9	86,9± 5.1	78.3± 4.6	78.2± 4,2	72,1± 4,1	72,1± 4,1	68.7± 3,8	68.8± 3.4	63,9± 3,6	64,1± 3,6	63,4± 3,6	61,5± 3,3	59.8±3,2	60,0± 3.2
Лимфоциты	3,8 ± 0,5	3,8 ± 1,0	3,9 ± 0,7	4.0 ± 0.7	8.1 ± 1,2	8.2 ± 1.0	8,2 ± 1.4	8,0 ± 1.2	10,8 ± 1,6	11,0 ± 1,8	11,3 ± 2,1	11,1 ± 2,3	13,1 ± 2,8	13.9 ± 3.4	14,5 ± 3,6	14.3 ± 3,5
Макрофаги	3,1 ± 0,2	3,2 ± 0,4	3,3 ± 0.5	3.1 ± 0.4	5.6 ± 0,9	5,8 ± 1,0	6,1 ± 1,1	6,3 ± 1,3	7,8 ± 1,2	10.9 ± 1,4	13.0 ± 2.8	13,1 ± 2,5	8,9 ± 1.3	12.6 ± 2.6	16,0 ± 3.9	16.1 ± 3.4
Фибробласты	-	-	-	-	-	0.1 ± 0,05	0,1 ± 0,05	0,1 ± 0,05	0.1 ± 0,05	1.1 ± 0.1	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	0.7 ± 0,1	1,4 ± 0,3	2,4 ± 0,4	2.3 ± 0.2
Микрофлора	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	< 50	< 50	< 100	< 50	< 25	< 25	< 25	< 25	0	0

Примечание: 1 – группа подростков, получавших традиционную терапию; 2 – группа подростков, получавших УЗК с физиологическим раствором; 3 - группа подростков, получавших ЛИ с Суперлимфом и УЗК; 4 – группа подростков, получавших ЛИ с Миелопидом и УЗК.

Как известно, анализ микрофлоры ран с целью адекватной антибактериальной терапии занимает важное место в лечении ГВЗ. Согласно данным литературы, к основным возбудителям гнойно-воспалительных заболеваний у детей в современных условиях относят: грамположительные микроорганизмы - золотистый стафилококк и стрептококк; грамотрицательные - синегнойную палочку, протей, кишечную палочку, клебсиеллу, цитробактер, церрацию; анаэробную неклостридиальную флору. В 60% случаев флора в гнойном очаге бывает смешанной (164, 123, 7, 119, 97, 191).

Состояние микрофлоры гнойных очагов поражения на фоне лечения было изучено у 122 подростков (у 54 - первой группы, 10 - второй группы; 21 - третьей группы; 17 - четвертой группы). Также было проанализировано 346 архивных историй болезни детей с аналогичной патологией (таб. 12).

Результаты бактериологического исследования материала из очага поражения показали, что грамположительная микрофлора составляла 71% микробного спектра, грамотрицательная – 25%, в 4% роста микрофлоры не выявлено. Среди микробных возбудителей наиболее часто высевался стафилококк (59,6%), стрептококк (14,5%), кишечная палочка (8,1%). Микробные ассоциации встречались в 8% случаев, монокультура – в 92%.

При исследовании штаммов стафилококка, в 52,7% случаев выделен золотистый стафилококк, в 37% - эпидермальный, в 10,3% - сапрофитный стафилококк (рис. 19), что соответствует данным литературы (178).

Среди смешанной флоры наиболее часто выделялись ассоциации стафилококка с кишечной палочкой (у 2,9% больных), стафилококк и синегнойная палочка (у 2,3%), стафилококка с протеем – (у 2,1%), стафилококка со стрептококком (у 1,1%), кишечная палочка и стрептококк – (у 0,3%), кишечная палочка и синегнойная палочки – (у 1% больных).

Таблица 12.

Частота высеваемости возбудителей из ран у детей с ГВЗ мягких тканей.

Возбудитель	**%**	**Абсолютные цифры**
Стафилококк	59,6	279
Стрептококк	14,5	68
Синегнойная палочка	1,5	7
Протей	5,8	27
Кишечная палочка	8,1	38
Клебсиелла	1,9	9
Грибы	0,6	3
Ассоциация	8	37
ВСЕГО	100	468

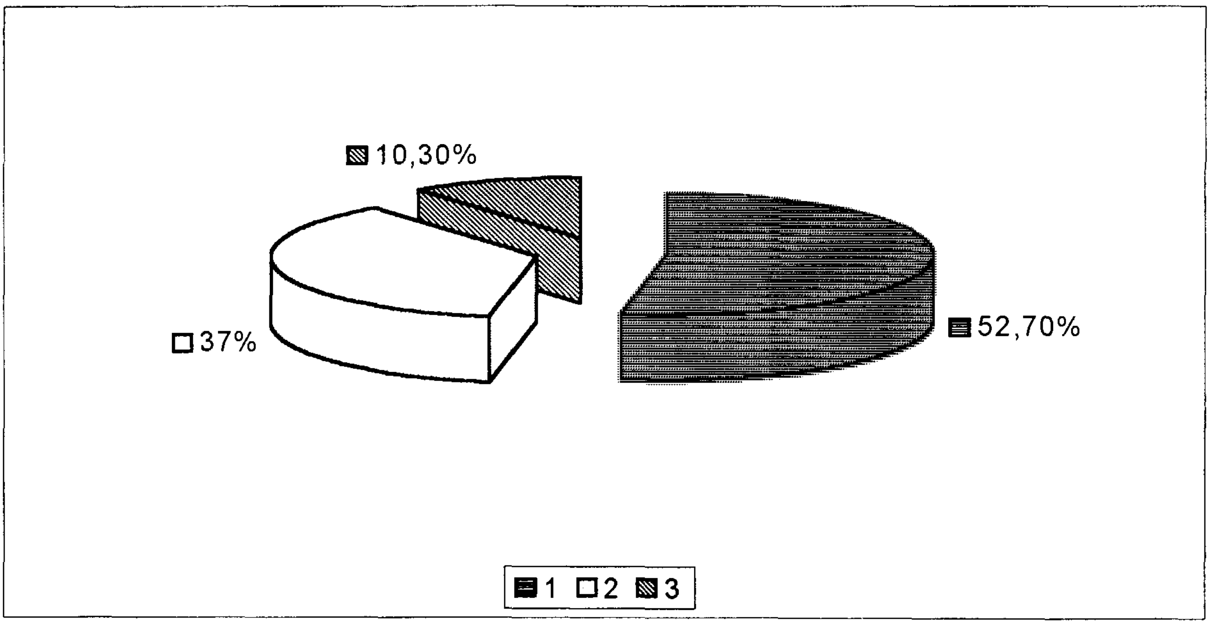

Рисунок 19. Распределение стафилококка по штаммам.

Примечание: 1 – золотистый стафилококк; 2 – эпидермальный стафилококк; 3 – сапрофитный стафилококк.

Кроме того, определялась чувствительность выделенных штамов к антибиотикам: пенициллину, оксациллину, ампициллину, бензиллпенициллину, линкомицину, эритромицину, полимиксину М, канамицину, рифапицину, гентамицину, клафорану, аксетину, цефобиду. Результаты исследования представлены в таблице 13.

Таблица 13.

Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам.

Антибиотик	Чувствительность анализируемых микроорганизмов в целом (в % случаев от общего числа)
Пенициллин	12,7%
Оксациллин	39,4%
Ампициллин	26,2%
Цефобид	63.2%
Эритромицин	36,4%
Канамицин	35,1%
Гентамицин	64,4%
Эритромицин	27,7%
Линкомицин	33,7%
Аксетин	63,2%

Как видно из таб. 12, все исследуемые штаммы микроорганизмов в 87,3% случаев были пенициллинрезистентными. Кишечная и синегнойная палочка были нечувствительны к ампициллину, а синегнойная палочка была чувствительна лишь к гентамицину, что согласуется с литературными данными (97, 123).

Изменения характера микрофлоры ран на фоне лечения было изучено нами у 56 больных.

У 28 подростков (15 пациентов, получавших традиционную терапию и 13 больных, получавших УЗК с физиологическим раствором), возбудитель выделялся на всем протяжении терапии (у 2 больных на 4-е сутки был выявлен единичный рост колоний).

Анализ состояния микрофлоры ран у 28 подростков (15 пациентов, получавших ЛИ с Суперлимфом в сочетании с УЗК и 13 больных - ЛИ с Миелопидом в сочетании с УЗК), показал, что после указанной процедуры на третьи сутки в 64% случаев роста микроорганизмов не было, а не сплошной рост колоний отмечался у 29,4% больных.

Это согласуется с полученными ранее данными об антибактериальной активности препаратов Миелопид и Суперлимф (181, 140, 61) и снижении числа повторных курсов антибиотикотерапии на фоне применения локальной имунокоррекции указанными препаратами и УЗК.

Клиническую эффективность применения локальной иммунокоррекции препаратом Миелопид в сочетании с УЗК иллюстрируют следующие клинические наблюдения.

Клинический пример 1.

Больная К., история болезни №7829, 1988 года рождения, поступила в хирургическое отделение Детской областной больницы г. Орла 16.02.01. с диагнозом: Абсцедирующий лимфаденит подчелюстной области справа.

Заболела остро 13.02.01. В анамнезе у больной неоднократные гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей (фурункулы, абсцессы).

В клинику поступила в состоянии средней тяжести с жалобами на повышение температуры тела до 39°, общую слабость, недомогание, снижение аппетита, наличие резко выраженной припухлости и болезненности в подчелюстной области справа.

После выполнения клинико-лабораторного и ультразвукового исследования (рис. 20) с целью уточнения характера и локализации гнойного процесса и выбора оптимального доступа, больной было проведено оперативное лечение. В асептических условиях абсцесс был вскрыт, взят посев содержимого на флору и чувствительность к антибиотикам, после чего произведен сеанс низкочастотной ультразвуковой кавитации гнойной полости с препаратом Миелопид (в концентрации 60 мкг/мл.) на резонансной частоте в течение 5 минут. В полость абсцесса поставлен пластинчатый резиновый дренаж. В послеоперационном периоде больная получала гентамицин по 80 мг 2 раза в день в/м, поливитамины, супрастин.

При бактериологическом исследовании содержимого гнойного очага был высеян Staphylococcus aureus.

Ежедневно проводились сеансы ЛИ и УЗК в течение 3 дней. Дренаж удален на 3-и сутки п/о периода. При осмотре: послеоперационная рана чистая, зажила первичным натяжением, отделяемого нет. В контрольном бактериологическом исследовании раневого отделяемого роста микрофлоры не наблюдалось.

Больная выписана домой в удовлетворительном состоянии. Длительность пребывания в стационаре составила 6 дней.

Осмотрена в хирургическом отделении ДОБ через 1 год – здорова, рецидивов заболевания не отмечалось.

Рис. 20. Сонограмма - ультразвуковая картина лимфатического узла до лечения с использованием цветного допплеровского картирования.

Примечание: на представленной сонограмме в центре лимфатического узла определяется зона аваскуляризации, с жидкостным компонентом в центре, что соответствует ультразвуковым признакам абсцедирования лимфатического узла.

Клинический пример 2.

Больной С. история болезни № 2461, 1987 г.р. поступил в ДХО ДОБ 15.03.2002 года на шестые сутки от момента начала заболевания с жалобами на интенсивные боли дергающего характера в области средней фаланги второго пальца левой кисти, наличие болезненной припухлости с гнойным отделяемым, повышение температуры тела, общее недомогание.

При поступлении поставлен диагноз панариций третьего пальца левой кисти. В асептических условиях проведено вскрытие панариция, получено около 5 мл густого желто-зеленого гноя, очаг дренирован пластинчатым резиновым дренажом. При бакпосеве содержимого гнойного очага был высеян Staphylococcus aureus. При цитологическом исследовании смыва из зоны воспаления: нейтрофилы 85%, макрофаги 2%, лимфоциты 12%, микробная обсемененность – более 100 колоний в поле зрения.

Пациенту был назначен комплексный курс консервативной терапии. 15.03.2002 больному начата локальная иммунокоррекция с препаратом Суперлимф в концентрации 2 мкг/мл и УЗК. Процедура ЛИ и УЗК проведилась в течение 3 дней в резонансном режиме. Со вторых суток терапии у подростка отмечалось отсутствие лихорадки, повышение аппетита. Раневое отделяемое сохранялось до третьих суток, с четвертых суток послеоперационная рана чистая, инфильтрации, отека не определяется. Оценка состояния раны на 6 сутки показала полное заполнение раневой поверхности грануляционной тканью. При контрольном цитологическом исследовании выявлено: нейтрофилы 42%, макрофаги 15%, лимфоциты 38%, фибробласты – 5%, микробные колонии не определяются.

Выписан на 6-е сутки. Осмотрен через 6 и 12 месяцев – здоров, рецидивов заболевания не отмечалось.

ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ В СОЧЕТАНИИ С УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАВИТАЦИЕЙ НА ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАТУСА ПОДРОСТКОВ С ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ.

По современным представлениям гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей сопровождаются развитием иммунной дисфункции, обусловленной накоплением в организме микробных токсинов и антигенов, медиаторов воспаления, протеолитических ферментов, иммунных комплексов и др. Явления иммунодефицита усугубляет дисбаланс продукции цитокинов, всегда сопровождающий инфекционный процесс (61, 73, 55, 80, 120, 224). Учитывая это, а также полученные в экспериментальных исследованиях данные о иммуномодулирующем действии препаратов Суперлимф и Миелопид, нами изучено влияние локальной иммунокоррекции в сочетании с ультразвуковой кавитацией на показатели иммунного статуса детей с ГВЗ мягких тканей.

При исследовании показателей иммунитета до начала лечения у 95% детей были выявлены нарушения, наиболее выраженные в цитокиновом статусе, что, вероятно, обусловлено локальным инфекционным процессом, сопровождающимся развитием острофазовой воспалительной реакции.

В табл. 14 представлены данные уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α) у здоровых детей и с ГВЗ мягких тканей.

Анализ полученных результатов позволил выявить у детей два типа реагирования организма на локальный гнойно-воспалительный процесс: первый тип, сопровождающийся увеличением синтеза провоспалительных цитокинов (одного, двух или трех) и «активным» течением заболевания и второй – со снижением продукции ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α на фоне затяжного течения патологического процесса в мягких тканях.

Так, исследования концентраций провоспалительных цитокинов в смывах из очага воспаления, проведенные до применения локальной иммунокоррекции и УЗК, выявили повышение их уровня по сравнению со стандартными значениями для биологических жидкостей в 87% случаев. При этом повышенная продукция ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α отмечалась у 42% больных, ИЛ-1β и ИЛ-8 – у 49%, ИЛ-1β – у 9% детей, соответственно.

Таблица 14.

Динамика уровней цитокинов сыворотки крови здоровых детей и с ГВЗ мягких тканей на фоне лечения.

Уровень цитокина, пкг/мл		До лечения	После лечения
ИЛ-1β	I группа (n=15)	115,65±15,15	58,35±15,45**
	II группа (n=10)	107,45±5,15	50,5±6,5**
	III группа (n=10)	125,65±19,85	43,65±3,15**
	IY группа (n=10)	115,95±10,5	45,55±5,25**
	Здоровые	46,55±15,75	
ИЛ-8	I группа (n=15)	0	0
	II группа (n=10)	0	0
	III группа (n=10)	0	0
	IY группа (n=10)	0	0
	Здоровые	0	
ФНО-α	I группа (n=15)	65,75±15,25	27,6±5,15**
	II группа (n=10)	60,15±10,5	28,5±4,25**
	III группа (n=10)	68,25±13,15	22,45±4,25**
	IY группа (n=10)	64,85±15,5	20,5±6,25**
	Здоровые	23,15±3,25	

Примечание: здесь, на рис. 21 и в табл. 15: I группа – больные, получавшие традиционную терапию; II группа - больные, получавшие УЗК с физиологическим раствором; III группа - больные, получавшие ЛИ с Суперлимфом и УЗК; IY группа - больные, получавшие ЛИ с Миелопидом и УЗК;** p<0,001 по сравнению с показателями до лечения.

Как видно из таблицы 15, более высокие концентрации в полостных смывах отмечены для ИЛ-1β и ИЛ-8, что сочеталось с выраженностью местной воспалительной реакции, вероятно, вследствие рекрутирования фагоцитов в зону воспаления. Кроме того, в сыворотках крови 56% данных пациентов определялся повышенный уровень ИЛ-1β и ФНО-α., а у 15% - ИЛ-1β. Следует отметить, что показатели продукции ИЛ-1β и ФНО-α в очаге воспаления значительно превышали их концентрацию в сыворотке крови, тогда как ИЛ-8 ни в одном из случаев (как у больных, так и у здоровых детей) в ней не определялся. Полученные результаты согласуются с данными литературы о том, что избыточные концентрации ИЛ-1β и ИЛ-8 в полостных смывах могут служить маркером активности местного острофазового ответа при гнойно-воспалительных процессах (140, 78, 73, 266).

Таблица 15.

Динамика уровней цитокинов смывов на фоне лечения у детей с ГВЗ мягких тканей.

Уровень цитокина, пкг/мл		До лечения	После лечения
ИЛ-1β	I группа (n=15)	415,63±21,35	118,2±10,8**
	II группа (n=10)	490,48±3,15	88,5±12,7**
	III группа (n=10)	435,65±9,15	50,1±3,65**
	IY группа (n=10)	470,55±19,5	49,85±4,25**
ИЛ-8	I группа (n=15)	357,6±25,95	78,55±15,45**
	II группа (n=10)	308,61±15,95	56,8±5,12**
	III группа (n=10)	360,35±15,9	35,2±2,5**
	IY группа (n=10)	345,55±22,5	39,45±6,5**
ФНО-α	I группа (n=15)	99,85±12,15	59,6±5,45*
	II группа (n=10)	96,15±10,5	38,1±1,25**
	III группа (n=10)	101,85±14,05	20,45±5,25**
	IY группа (n=10)	98,85±13,6	22,5±2,25**

Примечание: ** $p<0,001$ по сравнению с показателями до лечения.

Второй тип реагирования организма на локальный гнойно-воспалительный процесс, сопровождающийся снижением уровня цитокинов ИЛ-1β (до 16,25±2,85 пкг/мл), ИЛ-8 (до 28,55±3,45 пкг/мл), ФНО-α (до 22,15±5,15 пкг/мл) в очаге воспаления, наблюдался в 13% случаев, что у большинства детей сочеталось с угнетением цитокинпродуцирующей функции нейтрофилов (см. Гл. 3) . При этом снижение концентрации ИЛ-8 в смывах отмечалось у 72% больных данной группы; ИЛ-1β и ИЛ-8 – у 18%; ИЛ-1β и ФНО-α – у 6%; ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α. – у 4% детей, соответственно. Выявленное снижение у большинства пациентов продукции ИЛ-8, являющегося селективным хемоаттрактантом для нейтрофилов и активатором его функций, может затруднять элиминацию патогенных микроорганизмов из очага воспаления и способствовать затяжному течению патологического процесса.

Изучение концентраций цитокинов полостных смывов в динамике при применении Суперлимфа и Миелопида (рис. 21) показало, что после окончания курса введения препарата повышения уровня ИЛ-1β, ИЛ-8 и ФНО-α, при исходном их снижении, не отмечалось только у 1 ребенка четвертой группы. При этом следует отметить, что в ряде случаев (у 17% детей), локальная иммунокоррекция приводила к активации исходно повышенной эндогенной продукции ИЛ-1β и ИЛ-8 в очаге воспаления, вероятно, до уровня оптимального для купирования локального инфекционного процесса. У остальных детей на фоне применения препаратов иммунорегуляторных пептидов и УЗК отмечалась нормализация концентраций провоспалительных цитокинов как в полостных смывах, так и в сыворотке крови (рис. 21).

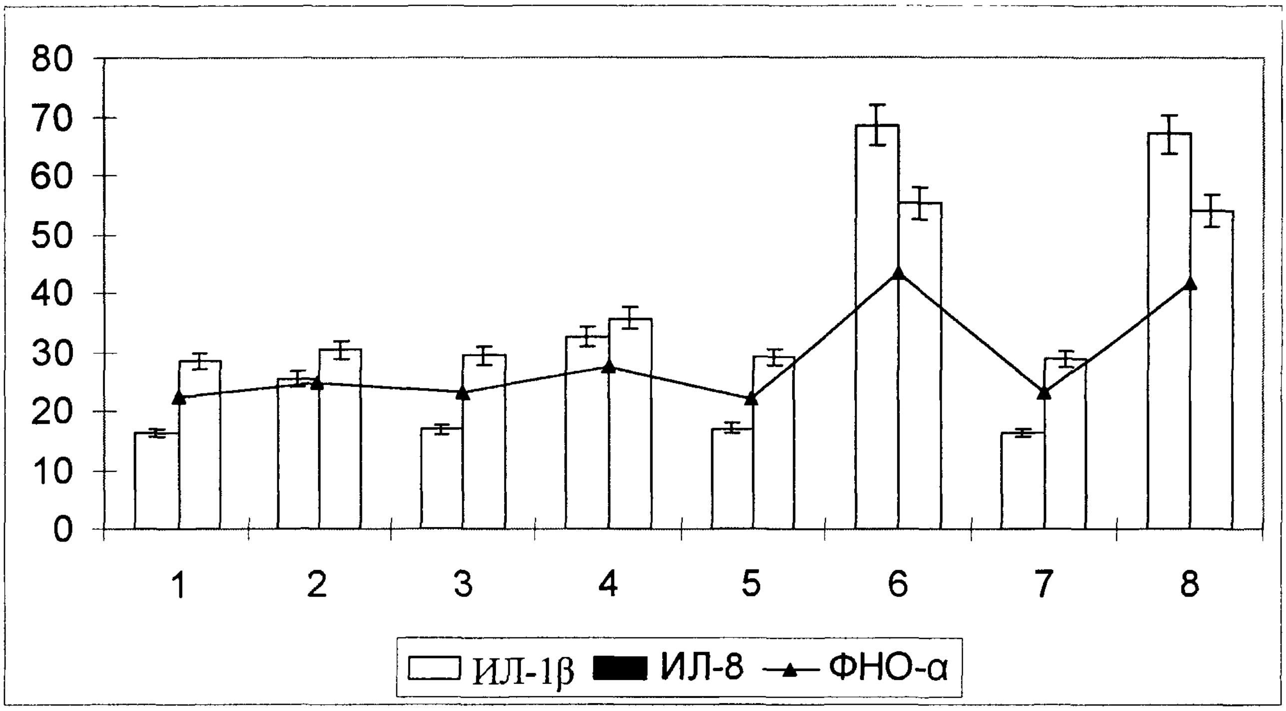

Рис. 21 Динамика уровней цитокинов смывов на фоне лечения у детей с ГВЗ мягких тканей.

Примечание: по оси абсцисс – группы больных; по оси ординат – концентрация цитокинов – пкг/мл; здесь и на рис. 22, табл. 16: 1 – показатели в I группе до лечения, 2 – после лечения; 3 - показатели во II группе до лечения, 4 – после лечения; 5 - показатели в III группе до лечения; 6 – после лечения; 7 - показатели в IY группе до лечения; 8 – после лечения; $p<0,001$ по сравнению с показателями до лечения у больных III и IY групп; $p<0,05$ – в I и II группах.

После курса традиционной терапии и УЗК с физиологическим раствором уровни исследуемых цитокинов достоверно изменялись (в зависимости от исходного содержания), однако, значений нормы в полостных смывах не достигали (табл. 15). Вместе с тем, у большинства больных данных групп (75%) наблюдалась нормализация концентрации ИЛ-1β и ФНО-α. в сыворотке крови. Следует отметить, что у 92% больных было отмечено сочетание положительной клинической динамики и улучшения до нормальных значений показателей локального цитокинового статуса.

Известно, что дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов может приводить к морфологическим изменениям фагоцитов, сопровождающихся нарушением экспрессии мембранных рецепторов на поверхности клеток и их функциональной активности (150, 60, 177, 102).

Как было показано ранее (см. Гл.3), особенностями фенотипа нейтрофилов полостных смывов и крови у большинства больных с ГВЗ мягких тканей является усиление экспрессии CD11b (92,5±3,1%) и (CD95) Fas рецепторов (до 31,2±0,55%) и ослабление - CD16 антигенов (до 54,2±3,2%).

По мере купирования воспалительного процесса в мягких тканях, отмечалось улучшение функциональной активности нейтрофилов со снижением на их поверхности количества (CD95) Fas и CD11b рецепторов и повышение CD16 антигенов (рис. 22). У детей с вялотекущим течением заболевания и исходно сниженным числом CD95 и CD11b+ клеток только локальная иммунокоррекция сопровождалось нормализацией фенотипа нейтрофилов (рис. 23). Это сочеталось с восстановлением исходно повышенной фагоцитарной активности нейтрофилов (с 92,2±4,1% до 59,8±5,7% $p<0,01$).

Кроме того, одним из важных показателей активности течения воспалительного процесса в мягких тканях явилось содержание иммуноглобулина G в полостных смывах. Так, при «активном» течении заболевания отмечалось увеличение концентрации IgG (1,03±0,33 г/л), что может быть следствием изменения сосудистой проницаемости и более интенсивной транссудации белков из сыворотки крови. При затяжном течении патологического процесса IgG в смывах не обнаруживался или определялся в следовых концентрациях, что, вероятно, связано с блокадой циркулирующих иммуноглобулинов антигенами микроорганизмов.

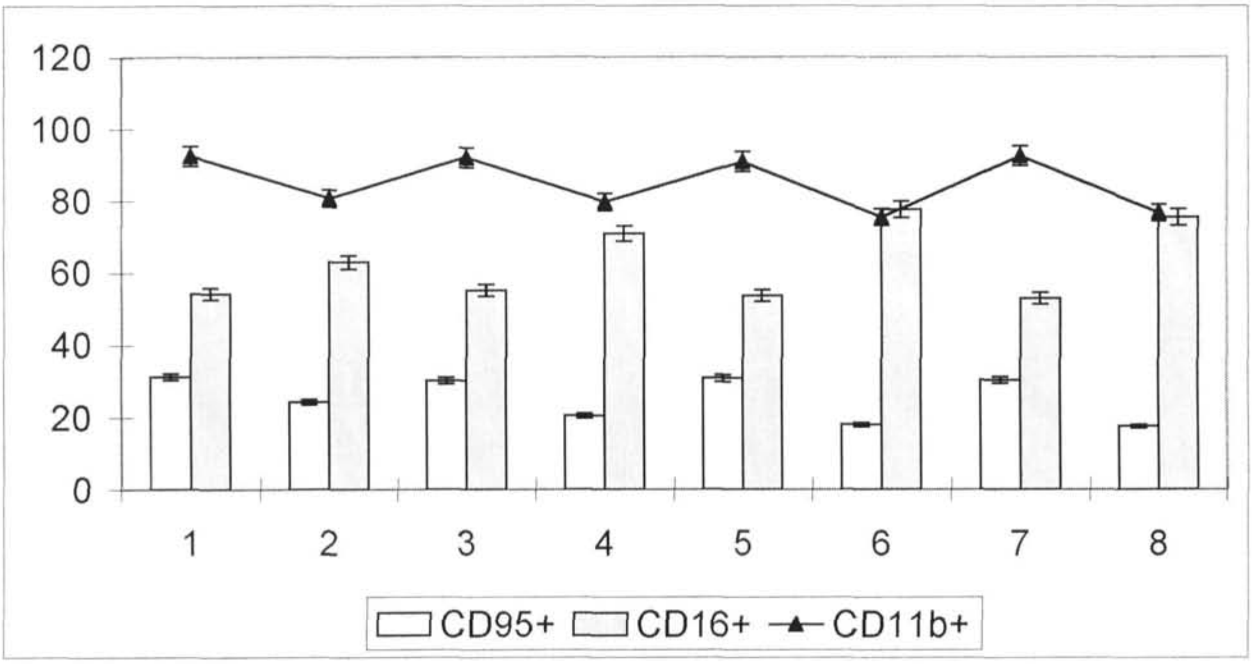

Рис. 22. Динамика фенотипа нейтрофилов полостного смыва у детей с ГВЗ мягких тканей.

Примечание: здесь и на рис. 23: по оси ординат – % клеток; $p<0,001$ по сравнению с показателями до лечения у больных II, III и IY групп; $p<0,05$ – в I группе.

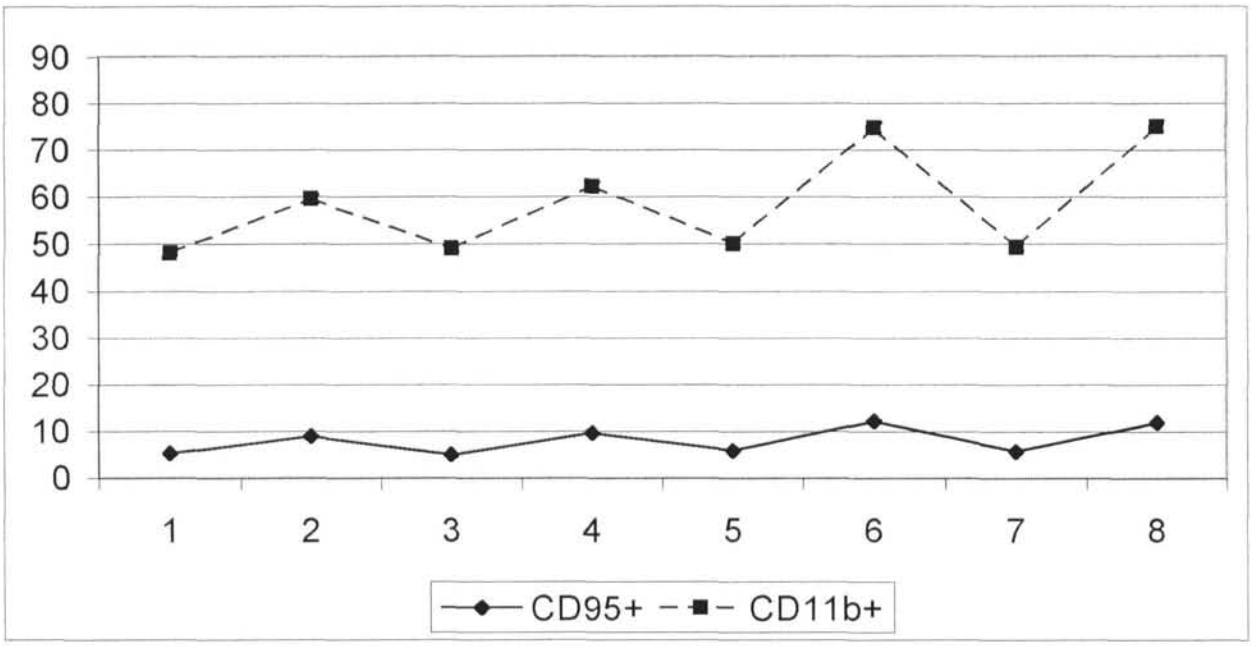

Рис. 23. Динамика экспрессии CD95 и CD11b+ нейтрофилами полостного смыва у детей с ГВЗ мягких тканей.

регуляторных Т-лимфоцитов, экспрессирующих стабильные (CD4+, CD8+) и активационные маркеры (CD4+CD25+, CD8+CD25+, CD4+CD71+, CD8+CD71+, HLA-DR+), а также числа CD95+ нейтрофилов и лимфоцитов, что свидетельствует о патогенетически значимом восстановлении не только количества, но и функциональной активности клеток. В контрольной группе, по окончании курса терапии, изменения показателей Т- звена иммунитета были менее выражены, а нормализации числа CD25+, CD71+, CD95+, HLA-DR+ - клеток не наблюдалось. Достоверная положительная динамика после локальной иммунокоррекции отмечалась также в отношении В-лимфоцитов (CD19+ клеток) и сочеталась с восстановлением исходно нарушенной продукции IgG, однако значительных различий по сравнению с традиционной терапией установлено не было (рис. 24).

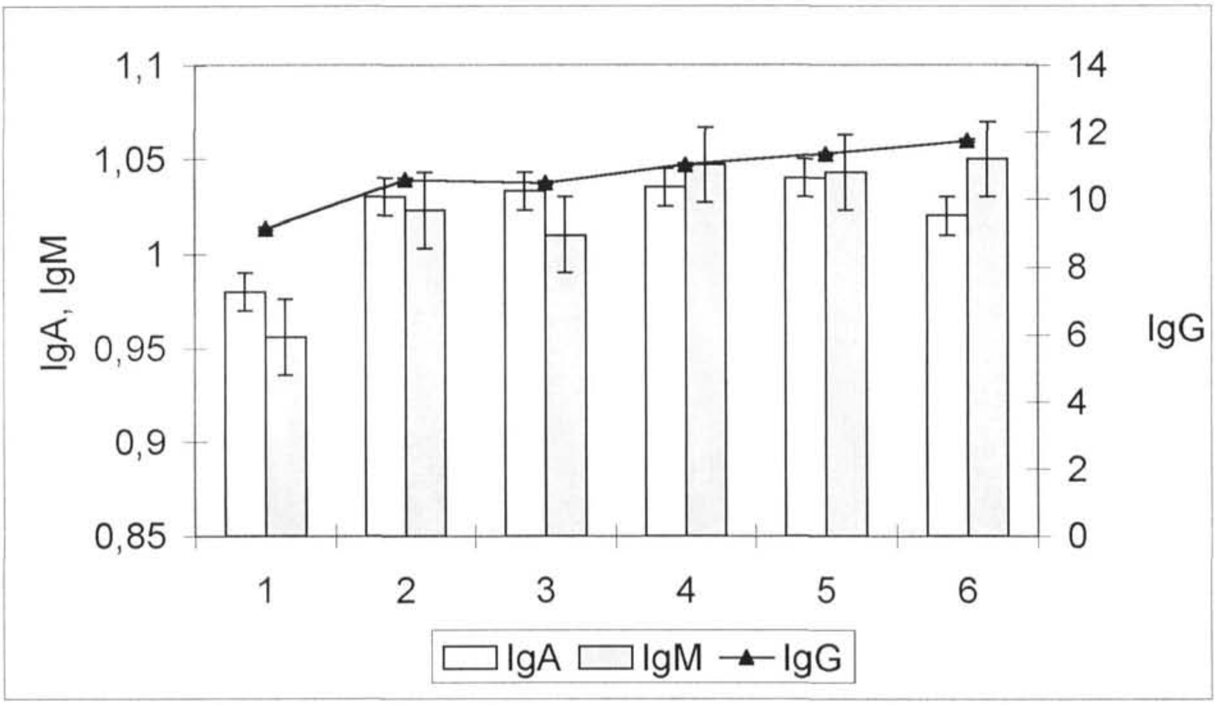

Рис. 24. Динамика содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови у больных с ГВЗ мягких тканей на фоне лечения.

Примечание: по оси ординат концентрация иммуноглобулинов в г/л; 1 – показатели до лечения; 2 – после лечения в первой группе; 3 – после лечения во второй группе; 4 – после лечения в 3 группе; 5 – после лечения в регуляторных Т-лимфоцитов, экспрессирующих стабильные (CD4+, CD8+) и активационные маркеры (CD4+CD25+, CD8+CD25+, CD4+CD71+, CD8+CD71+, HLA-DR+), а также числа CD95+ нейтрофилов и лимфоцитов, что свидетельствует о патогенетически значимом восстановлении не только количества, но и функциональной активности клеток. В контрольной группе, по окончании курса терапии, изменения показателей Т- звена иммунитета были менее выражены, а нормализации числа CD25+, CD71+, CD95+, HLA-DR+ - клеток не наблюдалось. Достоверная положительная динамика после локальной иммунокоррекции отмечалась также в отношении В-лимфоцитов (CD19+ клеток) и сочеталась с восстановлением исходно нарушенной продукции IgG, однако значительных различий по сравнению с традиционной терапией установлено не было (рис. 24).

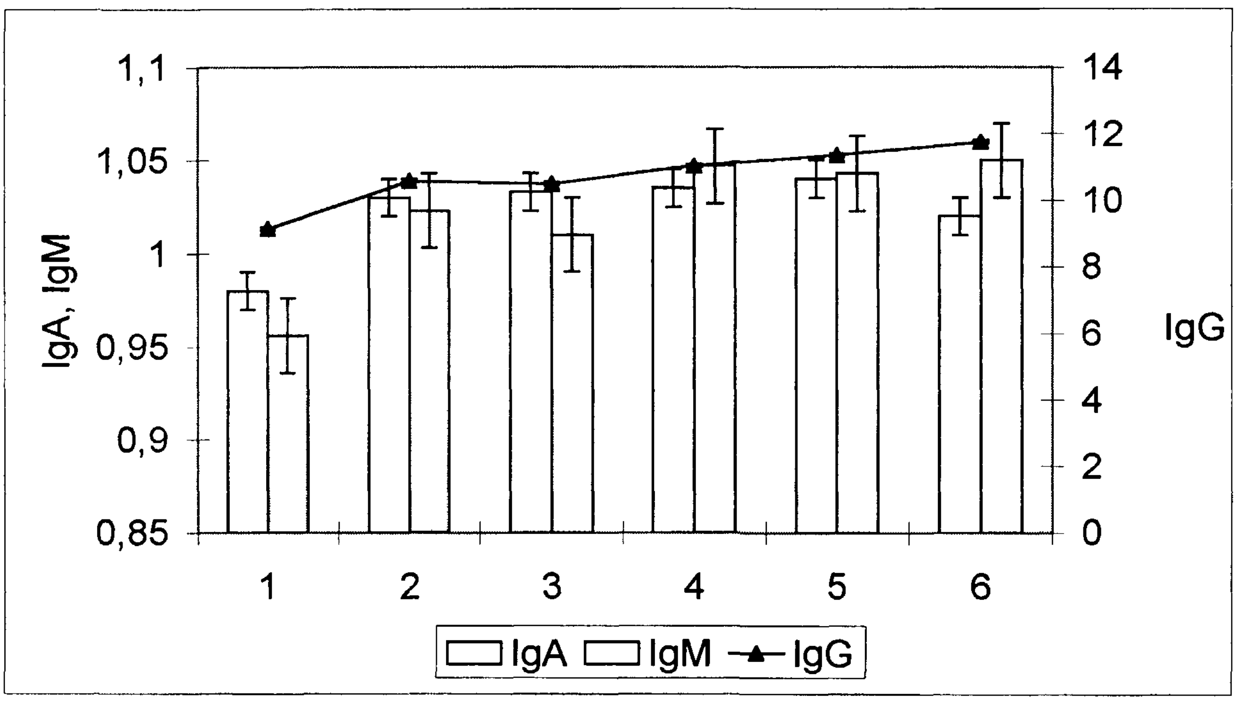

Рис. 24. Динамика содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови у больных с ГВЗ мягких тканей на фоне лечения.

Примечание: по оси ординат концентрация иммуноглобулинов в г/л; 1 – показатели до лечения; 2 – после лечения в первой группе; 3 – после лечения во второй группе; 4 – после лечения в 3 группе; 5 – после лечения в четвертой группе; 6 – показатели здоровых детей; $p<0,05$ для IgG во II, III и IY группах по сравнению с показателями до лечения.

Выявленная динамика показателей иммунограммы на фоне ЛЦТ сочеталась со снижением количества лейкоцитов в общем анализе крови (с 15,1±1,1 до лечения, до 7,86±1,04 после ЛИ с Суперлимфом и до 6,6±1,2 - с Миелопидом), а также с нормализацией числа лимфоцитов (с 12,04±2,03 до 27,2±2,47 и до 26,4±2,2, соответственно; $p<0,01$). У пациентов контрольной группы эти показатели по окончании курса лечения составили 8,6±2,44 и 24,4±1,3, соответственно ($p<0,01$).

Таблица 16.

Динамика показателей иммунитета детей с ГВЗ мягких тканей на фоне лечения

Показатель %)	Группа	До лечения	После лечения
CD4+	I группа (n=20)	29,9±1,6	32,8±1,04*
	II группа (n=15)	30,01±1,9	34,4±0,85*
	III группа (n=15)	30,1±1,5	38,3±1,5**
	IY группа (n=15)	29,7±0,9	37,9±0,95**
	Здоровые (n=15)	39,5±0,9	
CD8+	I группа (n=20)	17,1±1,2	19,5±1,8*
	II группа (n=15)	17,9±1,6	20,85±1,07*
	III группа (n=15)	18,09±1,5	26,3±1,05**
	IY группа (n=15)	17,6±1,1	26,7±1,6**
	Здоровые (n=15)	27,3±1,2	
CD19+	I группа (n=20)	9,1±1,1	12,3±1,2*
	II группа (n=15)	9,3±1,08	13,1±1,07*
	III группа (n=15)	9,72±1,1	13,8±1,4*
	IY группа (n=15)	9,1±1,2	14,1±0,9**
	Здоровые (n=15)	14,25±0,8	

Примечание: здесь и в табл. 17: I группа – показатели больных, получавших традиционную терапию; II группа - показатели больных, получавших УЗК с физиологическим раствором; III группа - показатели больных, получавших ЛИ с Суперлимфом и УЗК; IY группа - показатели больных, получавших ЛИ с Миелопидом и УЗК; *- p<0,05; ** - p<0,001

Таблица. 17

Динамика показателей маркеров активации у детей с ГВЗ мягких тканей на фоне лечения

Показатель (%)	Группа	До лечения	После лечения
CD4+ CD25+	I группа (n=20)	3,56±0,45	3,63±0,08
	II группа (n=15)	3,66±0,15	3,84±0,06
	III группа (n=15)	3,7±0,15	4,14±0,4*
	IY группа (n=15)	3,48±0,5	4,26±0,25*
	Здоровые (n=15)	4,34±0,3	
CD8+ CD25+	I группа (n=20)	0,9±0,05	1,2±0,35
	II группа (n=15)	1,15±0,15	1,34±0,05*
	III группа (n=15)	1,09±0,1	1,48±0,15*
	IY группа (n=15)	0,98±0,25	1,52±0,05**
	Здоровые (n=15)	1,6±0,35	
CD4+ CD71+	I группа (n=20)	2,5±0,15	2,69±0,04
	II группа (n=15)	2,66±0,05	2,8±0,05
	III группа (n=15)	2,7±0,05	3,64±0,1*
	IY группа (n=15)	2,45±0,07	3,46±0,05*
	Здоровые (n=15)	3,8±0,3	
CD8+ CD71+	I группа (n=20)	1,1±0,1	1,2±0,15
	II группа (n=15)	1,05±0,05	1,28±0,05
	III группа (n=15)	1,1±0,1	1,54±0,05**
	IY группа (n=15)	1,08±0,05	1,62±0,1**
	Здоровые (n=15)	1,85±0,25	
HLA-DR+	I группа (n=20)	21,3±0,8	24,05±1,1*
	II группа (n=15)	22,05±1,05	25,5±0,5*
	III группа (n=15)	21,8±1,2	31,05±0,3**
	IY группа (n=15)	20,9±1,15	30,45±0,5**
	Здоровые (n=15)	32,4±1,2	
CD95+	I группа (n=20)	17,7±0,6	14,2±0,3*
	II группа (n=15)	18,1±0,5	13,9±0,35*
	III группа (n=15)	17,95±0,35	12,2±0,15**
	IY группа (n=15)	18,35±0,5	11,95±0,5**
	Здоровые (n=15)	11,7±0,5	

Таким образом, проведенные исследования показали, что включение локальной иммунокоррекции в программу комплексного лечения детей с ГВЗ мягких тканей приводит к нормализации показателей системного и местного иммунитета, что способствует более ранней элиминации патогена из очага воспаления и завершению локального патологического процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Анализ литературы последних лет, посвященной гнойной хирургии детского возраста, убедительно доказывает актуальность проблемы хирургических инфекций, в том числе мягких тканей (7, 5, 131, 132, 164, 208).

В настоящее время для лечения ГВЗ мягких тканей используются различные хирургические методы и способы, антимикробные и ранозаживляющие препараты (43, 97, 87, 32, 164, 191, 210, 235, 246). Однако высокий процент инфекционных осложнений у больных, особенно детского возраста, появление антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, на фоне снижения общей и местной иммунной реактивности требуют дальнейшей разработки и усовершенствования методов лечения (134, 115, 48).

Значительный прогресс в изучении клеточных и молекулярных основ развития и функционирования иммунной системы позволил существенно изменить представления о роли иммунных механизмов в патогенезе гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей. В последние годы установлено, что острые гнойно-воспалительные реакции могут быть обусловлены нарушением процессов пролиферации и апоптоза, а также дисбалансом продукции цитокинов, приводящим к генерализации воспалительного процесса, нарушению регенерации тканей (грубому рубцеванию, развитию тяжелых экссудативных реакций и т.д.), усугублению имеющегося иммунодефицита (13, 52, 140, 188, 198, 234, 216, 255). Показано, что тяжесть течения и исход гнойно-воспалительных процессов коррелирует с высоким уровнем провоспалительных цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1-β) в сыворотке крови и очаге воспаления (140, 181, 44, 20).

Большие возможности в улучшении результатов терапии гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей открывает использование в программах хирургического лечения локальной иммунокоррекции (76, 61, 82, 181, 28, 71).

Установлен выраженный клинический эффект местного применения препаратов иммунорегуляторных пептидов при вялотекущих раневых процессах, заболеваниях пародонта, легких, ЛОР-органов и др. При этом, несмотря на различную локализацию патологического процесса, локальная иммунокоррекция способствовала быстрому купированию воспаления, нормализации регенерации тканей, ограничению применения антибиотиков, предотвращению хронизации и рецидивов (61, 137, 52, 30, 31, 56, 266). Наилучшие результаты получены при использовании комплексных препаратов регуляторных пептидов (104, 140, 181, 78, 28, 77).

Учитывая изложенное, целью работы явилось повышение эффективности лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей у подростков путем разработки и оценки клинической эффективности способа локального применения препаратов иммунорегуляторных пептидов в сочетании с низкочастотной ультразвуковой кавитацией.

В связи с этим, нами экспериментальна была изучена возможность локального применения препаратов регуляторных пептидов у подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

В качестве препаратов иммунорегуляторных пептидов были выбраны препарат Миелопид, представляющий собой композит гетерологичных миелопептидов, и препарат Суперлимф с активностью цитокинов МИФ, ИЛ-1,2,6, ФНО-α и ТФР-β.

Учитывая важную роль нейтрофилов и продуцируемых ими медиаторов в течение воспалительного процесса, нами исследовалось влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на функциональную активность нейтрофилов здоровых детей и подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

В последние годы установлено, что важными показателями функционирования нейтрофилов является характеристика поверхностных рецепторов, трансформирующих внешние сигналы в те или иные клеточные реакции (46, 74, 109, 118, 177, 102, 75, 213). В связи с этим представляло интерес исследовать влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на рецепторный аппарат нейтрофилов здоровых детей и подростков с ГВЗ мягких тканей.

Результатами экспериментов установлено, что инкубация нейтрофилов крови здоровых детей с препаратом Суперлимф (5, 10 мкг/мл) in vitro сопровождалась достоверным усилением спонтанной и снижением зимозан-индуцированной экспрессии CD11b, CD16 – маркеров. В тоже время внесение Суперлимфа, а также Миелопида, в изучаемых концентрациях в культуру нейтрофилов подростков с ГВЗ мягких тканей приводило к повышению количества клеток, экспрессирующих цитолитический рецептор CD16 (табл. 4, 5, 6, 7).

Установлена также способность изучаемых препаратов ингибировать спонтанную и зимозан-индуцированную экспрессию адгезивных молекул (CD11b) нейтрофилами периферической крови больных, что может иметь важное значение в предотвращении β_2–интегринзависимой цитотоксичности (табл. 5,7).

При исследовании влияния Миелопида на рецепторный аппарат нейтрофилов крови здоровых детей не выявлено достоверно значимого изменения спонтанной и индуцированной экспрессии CD11b, CD16 (табл. 6).

Учитывая то, что при гнойно-воспалительных заболеваниях наблюдается избыточный апоптоз нейтрофилов, который может приводить к ослаблению антимикробной защиты организма (61, 3, 69, 172, 232, 209, 247, 244), нами изучалось влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на Fas-экспрессию нейтрофилов.

Результатами экспериментов установлено (рис. 4), что инкубация нейтрофилов крови здоровых и больных детей с препаратом Суперлимф или Миелопид in vitro, приводила к достоверному снижению числа CD95+ клеток и носила дозозависимый эффект, т.е. наиболее была выражена в дозе 10 мкг/мл (для Суперлимфа) и 60 мкг/мл (для Миелопида). При этом следует отметить, что антиапоптотическое действие препаратов сочеталось с их праймирующей активностью в отношении экспрессии CD16 регуляторных молекул, уровень которых на апоптозных нейтрофилах, согласно данным литературы, значительно снижается (61, 140, 74, 14, 228, 229).

При сравнении мембранного фенотипа нейтрофилов крови и полостных смывов у детей с ГВЗ установлено, что показатели экспрессии CD11b и CD95 маркеров нейтрофилов смывов были значительно выше, что, вероятно, связано с повышенной концентрацией медиаторных молекул в зоне воспаления, приводящих к чрезмерной активации экссудативных нейтрофилов. Однако, в 10% случаев было выявлено снижение числа CD11b и CD95+ нейтрофилов в смывах, что может быть обусловлено исходным нарушением экспрессии данных рецепторов, а также накоплением в зоне воспаления ингибиторов апоптоза и хемоаттрактантов.

Кроме того, у большинства детей с ГВЗ в полостных смывах на 22-25% снижалось количество нейтрофилов, несущих маркер цитотоксичности CD16, с чем может быть связано затруднение элиминации патогена из очага повреждения.

Обработка экссудативных нейтрофилов препаратами Суперлимф или Миелопид в изучаемых концентрациях приводила к «выравниванию» экспрессии поверхностных маркеров: повышению исходно сниженной и снижению исходно повышенной до уровня показателей мембранного фенотипа фагоцитов крови здоровых детей (рис. 5,6).

Учитывая то, что цитокинобразующая функция нейтрофилов значительно расширяет их эффекторный потенциал и во многом определяет течение и исход воспалительного процесса, а также данные ряда авторов о регулирующем действии пептидов иммунной системы на синтез и секрецию нейтрофилами цитокинов (74, 109, 177, 213), нами изучено in vitro влияние препаратов Суперлимф и Миелопид на продукцию ИЛ-1β, ИЛ-8, ФНО-α нейтрофилами периферической крови и очага воспаления при ГВЗ мягких тканей у подростков.

Результаты экспериментов показали, что внесение препаратов в культуру нейтрофилов здоровых пациентов, сопровождалось усилением спонтанной продукции ИЛ-1β, ИЛ-8, ФНО-α, что, вероятно, связано с праймирующим действием регуляторных пептидов. В то же время, наблюдалась тенденция к стимуляции ФГА-индуцированного синтеза исследуемых провоспалительных цитокинов (рис. 7, табл. 8). При этом не было установлено достоверных различий при использовании Суперлимфа в дозах 5 и 10 мкг/мл, а также по сравнению с Миелопидом.

Исследования концентраций цитокинов в супернатантах клеток больных (рис. 8, 9, табл. 8) позволили выявить иммуномодулирующее действие препаратов на нейтрофилы: повышение исходно сниженной, по сравнению со здоровыми детьми, спонтанной и стимулированной продукции ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α и снижение – исходно повышенной, что может иметь важное значение для элиминации микроорганизмов из очага инфекции и полноценного завершения воспалительного процесса.

Аналогичная зависимость наблюдалась при действии Миелопида и Суперлимфа на экссудативные нейтрофилы (рис. 10, 11), что свидетельствует о возможности патогенетически значимой коррекции изучаемыми препаратами продукции ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α клетками очага воспаления. При этом следует отметить, что эффект препаратов в обоих случаях был более выражен при использовании Суперлимфа в дозе 10 мкг/мл, Миелопида 60 мкг/мл.

Таким образом, проведенные исследования показали, что изучаемые препараты в оптимальных концентрациях оказывают иммуномодулирующее действие на цитокинопродукцию и рецепторный аппарат нейтрофилов. Это послужило экспериментальным обоснованием местного применения препаратов Суперлимф и Миелопид в комплексном лечении подростков с ГВЗ мягких тканей, а также разработки показаний к проведению локальной иммунокоррекции и оценки ее клинической эффективности.

Нами был разработан способ лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей у детей, включавший в себя локальную иммунокоррекцию в сочетании с низкочастотной УЗК (приоритетная справка по заявке на изобретение № 2003102394), а также проведена оценка его эффективности по сравнению с традиционным лечением и ультразвуковой кавитацией. ЛИ препаратами иммунорегуляторных пептидов в сочетании с УЗК использована в комплексном лечении 43, в том числе у 22 - с препаратом Суперлимф (III группа) и у 21 - с Миелопидом (IV группа), среднего возраста 14,1±0,2 и 14,2+0,5 лет, соответственно. 13 пациентов (II группа) на фоне традиционного лечения получали УЗК с физиологическим раствором. Контрольную (I группу) составили 76 больных, которым проводилась традиционная терапия, включавшая вскрытие, дренирование и санацию гнойных очагов, комбинированную общую и местную антибактериальную, дезинтоксикационную терапию и симптоматическое лечение. Группы были сопоставимы по полу, возрасту и характеру патологического процесса в мягких тканях, распределение в них было случайным.

Выраженность клинических симптомов гнойно-воспалительного процесса в мягких тканях оценивали в баллах по разработанным нами критериям. При этом учитывали: общее состояние; температуру тела и длительность лихорадочного периода; количество и характер раневого отделяемого; боль, припухлость, гиперемию, нарушение функции в очаге поражения; число лейкоцитов в периферической крови и показатели СОЭ, которые оценивали на 1, 3, 6, 9 сутки и при выписке больного (табл. 3). Совокупная оценка выраженности патологического процесса в 25 и более баллов соответствовала высокой степени активности; 24,5 - 17,5 – умеренной; ниже 17,0 - незначительной.

ЛИ и УЗК выполнялась интраоперационно и в послеоперационном периоде ежедневно в течение 3-5 дней до полного заживления раны. Противопоказанием к использованию ЛИ и УЗК являлась индивидуальная непереносимость или аллергическая реакция пациента на компоненты озвучиваемой жидкости.

Ультразвуковая кавитация проводилась на аппарате УРСК 7Н 18 в режиме резонансной частоты (26,5 кГц), с обязательной 3-4 кратной сменой раствора за время сеанса (97). В качестве озвучиваемой жидкости для процедуры локальной иммунокоррекции использовали 50 мл физиологического раствора, содержащего препарат Суперлимф (2 мкг/мл) или Миелопид (60 мкг/мл). Добавление в раствор препаратов производилось непосредственно перед проведением процедуры.

Оценка клинической эффективности традиционной терапии, УЗК с физиологическим раствором и локальной иммунокоррекции (с препаратами Суперлимф и Миелопид) в сочетании с УЗК показала (рис. 12), что общий балл выраженности симптомов воспалительного процесса до лечения у больных исследуемых групп составил 27,3±1,1 балла, 26,4±0,9 балла, 26,9±1,1 и 27,5±1,2 баллов, соответственно. При этом у пациентов, получавших локальную иммунокоррекцию и УЗК, к 3 дню лечения отмечалось его снижение до 11,8±0,5 баллов (на фоне Суперлимфа), до 12,2±0,6 баллов (на фоне Миелопида), в то время как у пациентов первой и второй групп сумма баллов оставалась на достаточно высоком уровне (17,1±0,7 и 16,2±0,6 балла, соответственно). К 5-6 суткам ЛИ в сочетании с УЗК у всех пациентов указанные выше симптомы почти полностью регрессировали и достигали значений нормы у большинства подростков (94-96%) к моменту выписки на 6-7 сутки (0,8±0,1 и 0,9±0,1 балла, соответственно). При этом у больных первой и второй групп купирование воспалительного процесса в мягких тканях происходило только к 9-11 дню (1,3±0,2 и 1,0±0,1 балла, соответственно).

Учитывая полученные данные о более быстрой, по сравнению с традиционной терапией, регрессией локальных проявлений гнойно-воспалительного процесса в мягких тканях на фоне ЛИ с препаратами иммунорегуляторных пептидов, нами была изучена динамика показателей течения раневого процесса на фоне лечения. При этом оценивали: характер и длительность раневого отделяемого, срок появления грануляций, цитологический состав мазков-отпечатков, микробиологическую обсемененность раны по данным цитологического исследования, срок полного заживления раны (табл. 10).

Полученные данные позволили нам выделить три степени активности течения локального воспалительного процесса, которые, на наш взгляд, являются наиболее значимыми при оценке клинической эффективности различных методов лечения. Совокупная оценка выраженности локального патологического процесса в 15 – 10 баллов соответствовала высокой степени активности, 10 - 5 - умеренной, менее 5 - незначительной.

Анализ проведенных исследований показал, что на фоне локального применения препарата Суперлимф и УЗК на шестые сутки лечения отмечалось почти полное купирование воспалительного процесса в ране: очищение от некротических тканей, отсутствие раневого отделяемого, заполнение раневой поверхности грануляционной тканью, уменьшение площади раны, снижение числа микробных колоний в мазках-отпечатках и наличие в них клеток, свидетельствующих о процессе регенерации тканей (фибробластов до 1,4±0,2, макрофагов до 13,0±2,8).

При этом у пациентов четвертой группы положительная динамика симптомов была менее выражена (рис.18), а в контрольных группах (с применением традиционной терапии и УЗК с физиологическим раствором) купирование процесса происходило только к 9-11 дню.

Кроме того, у 2,7% пациентов первой группы с вялым течением раневого процесса и длительно сохраняющимся гнойным или серозно-гнойным отделяемым из раны (свыше 8-9 суток) отмечено появление рецидивов заболевания в срок от 6 до 12 месяцев наблюдения.

При этом следует отметить, что сочетанное использование ЛИ и УЗК в третьей и четвертой группах позволило в 22% случаев избежать назначения антибиотиков, а также снизить до 2,4% число больных, получавших повторные курсы антибиотикотерапии.

Общая продолжительность лечения при использовании традиционной терапии и УЗК с физиологическим раствором составляла 9-11 дней (в среднем 9,6±1,0 и 7,6±0,6 дней). У больных III и IV групп лечебная тактика с использованием локальной иммунокоррекции и УЗК приводило не только к более быстрой регрессии клинических симптомов, но и позволила снизить среднюю продолжительность пребывания больных в стационаре до 6,5±0,3 и 6,54±0,4 койко-дней, соответственно, при использовании ЛИ с Суперлимфом и Миелопидом (рис. 17).

Высокий клинический эффект локальной иммунотерапии в сочетании с ультразвуковой кавитацией сочетался с положительной динамикой показателей иммунного статуса подростков.

Так, при исследовании показателей иммунитета до начала лечения у 95% подростков были выявлены нарушения, наиболее выраженные в цитокиновом статусе, что, вероятно, обусловлено локальным инфекционным процессом, сопровождающимся развитием острофазовой воспалительной реакции.

Анализ полученных результатов позволил выявить у пациентов два типа реагирования организма на локальный гнойно-воспалительный процесс: первый тип, сопровождающийся увеличением синтеза провоспалительных цитокинов и «активным» течением заболевания и второй – со снижением продукции ИЛ-1β , ИЛ-8, ФНО-α на фоне затяжного течения патологического процесса в мягких тканях.

Как видно из таблицы 15, более высокие концентрации в полостных смывах отмечены для ИЛ-1β и ИЛ-8, что сочеталось с выраженностью местной воспалительной реакции, вероятно, вследствие рекрутирования фагоцитов в зону воспаления. Кроме того, в сыворотках крови 56% данных пациентов определялся повышенный уровень ИЛ-1β и ФНО-α., а у 15% - ИЛ-1β.

Следует отметить, что показатели продукции ИЛ-1β и ФНО-α в очаге воспаления значительно превышали их концентрацию в сыворотке крови, тогда как ИЛ-8 ни в одном из случаев (как у больных, так и у здоровых детей) в ней не определялся (табл. 14, 15).

Второй тип реагирования организма на локальный гнойно-воспалительный процесс, сопровождающийся снижением уровня цитокинов ИЛ-1β (до 16,25±2,85 пкг/мл), ИЛ-8 (до 28,55±3,45 пкг/мл), ФНО-α (до 22,15±5,15 пкг/мл) в очаге воспаления, наблюдался в 13% случаев, что у большинства детей сочеталось с угнетением цитокинпродуцирующей функции нейтрофилов.

Изучение концентраций цитокинов полостных смывов в динамике при применении Суперлимфа и Миелопида показало, что после окончания курса введения препарата у большинства детей отмечалась нормализация концентраций провоспалительных цитокинов как в полостных смывах, так и в сыворотке крови.

После курса традиционной терапии и УЗК с физиологическим раствором уровни исследуемых цитокинов достоверно изменялись (в зависимости от исходного содержания), однако, значений нормы в полостных смывах не достигали. Вместе с тем, у 75% больных данных групп наблюдалась нормализация концентрации ИЛ-1β и ФНО-α. в сыворотке крови. Следует отметить, что у 92% больных было отмечено сочетание положительной клинической динамики и улучшения до нормальных значений показателей локального цитокинового статуса.

По мере купирования воспалительного процесса в мягких тканях, отмечалось улучшение функциональной активности нейтрофилов (рис. 22, 23) со снижением на их поверхности количества (CD95) Fas и CD11b рецепторов и повышение CD16 антигенов. У детей с вялотекущим течением заболевания и исходно сниженным числом CD95 и CD11b+ клеток только ЛИ сопровождалось нормализацией фенотипа нейтрофилов. Это сочеталось с восстановлением исходно повышенной фагоцитарной активности нейтрофилов, уровня иммуноглобулина G в полостных смывах.

Кроме того, купирование локального воспалительного процесса в мягких тканях приводило к улучшению показателей системного иммунитета. На фоне применения ЛИ в сочетании с УЗК отмечалось нормализация фагоцитарной активности нейтрофилов, числа регуляторных Т-лимфоцитов, экспрессирующих стабильные (CD4+, CD8+) и активационные маркеры (CD4+CD25+, CD8+CD25+, CD4+CD71+, CD8+CD71+, HLA-DR+), а также числа CD95+ нейтрофилов и лимфоцитов, что свидетельствует о патогенетически значимом восстановлении не только количества, но и функциональной активности клеток (табл. 16, 17). В контрольной группе, по окончании курса терапии, изменения показателей Т- звена иммунитета были менее выражены, а нормализации числа CD25+, CD71+, CD95+, HLA-DR+ - клеток не наблюдалось (табл. 17). Достоверная положительная динамика после ЛИ отмечалась также в отношении В-лимфоцитов (CD19+ клеток) и сочеталась с восстановлением исходно нарушенной продукции IgG, однако значительных различий по сравнению с традиционной терапией установлено не было (рис. 24).

Таким образом, проведенные исследования показали, что включение локальной иммунокоррекции и низкочастотной ультразвуковой кавитации в программу комплексного лечения подростков с ГВЗ мягких тканей обеспечивает быстрое и стойкое купирование локального воспалительного процесса, сокращает сроки лечения, предотвращает развитие рецидивов.

ВЫВОДЫ

1. Препараты Суперлимф и Миелопид in vitro оказывают иммуномодулирующее влияние на функциональную активность нейтрофилов периферической крови и очага воспаления подростков с ГВЗ мягких тканей: спонтанную и индуцированную экспрессию мембранных рецепторов (CD11b, CD16, CD95), продукцию цитокинов (ИЛ-1β, ФНО-α, ИЛ-8).
2. Локальная иммунокоррекция препаратами Суперлимф или Миелопид в сочетании с ультразвуковой кавитацией является эффективным способом лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей у подростков, позволяющим, по сравнению с традиционной терапией и ультразвуковой кавитацией, более быстро купировать воспалительный процесс в тканях и сократить на 3-4 дня сроки лечения.
3. Комплексный способ лечения, включающий локальную иммунокоррекцию и ультразвуковую кавитацию, оказывает положительное влияние на все фазы течения раневого процесса: ускоряет сроки очищения ран от гнойно-некротических масс, стимулирует процессы репарации.
4. Применение локальной иммунокоррекции с ультразвуковой кавитацией у подростков с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей приводит к восстановлению в периферической крови уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, ФНО-α, ИЛ-8), функциональной активности лимфоцитов (экспрессии CD4+, CD8+, CD19+, CD25+, CD71+, CD95+, HLA-DR+), фагоцитарной активности нейтрофилов.
5. Способ сочетанного использования локальной иммунокоррекции и ультразвуковой кавитации у больных с ГВЗ мягких тканей способствует

восстановлению уровня ИЛ-1β, ИЛ-8, ФНО-α в смывах из очага воспаления, функциональной активности нейтрофилов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В комплексном лечении детей с ГВЗ мягких тканей с целью ускорения купирования патологического процесса в воспалительном очаге рекомендуется локальное введение препарата Суперлимф в дозе 2 мкг/мл или Миелопид в дозе 60 мкг/мл.
2. Процедуру локальной иммунокоррекции необходимо сочетать с интра- и послеоперационной ультразвуковой кавитацией, проводимой в асептических условиях операционной или перевязочной без анестезии в резонансном режиме на аппарате УРСК 7Н18, в течении 5-7 минут, с 3-4-х кратной сменой озвучиваемой жидкости (раствора препарата Суперлимф или Миелопид).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Амирасланов Ю.А. Лечение ран в управляемой абактериальной среде / Ю.А. Амирасланов, В.М.Матасов, В.Ф. Хотинян. - М.: Медицина, 1981. -48 с.
2. Апоптоз и пролиферация как альтернативные формы ответа Т-лимфоцитов на стимуляцию / М.Ф. Никонова, М.М. Литвина, М.И. Варфоломеева и др. // Иммунология. – 1999. - №2. – С. 20-23.
3. Апоптоз нейтрофилов / А.Н. Маянский , Н.А. Маянский, М.И. Заславская и др. // Иммунология. – 1999. – № 6. – С. 11–20.
4. Апоптоз, роль в патологии и значимость его оценки при клинико-иммунологическом обследовании больных / А.А. Ярилин, М.Ф. Никонова, А.А. Ярилина и др. // Мед. иммунология. – 2000.- Т.2, № 1. – С. 7-16.
5. Ашкрафт К.У. Детская хирургия: в 3 т. Т.2 / К.У. Ашкрафт, Т.М. Холдер. - СПб.: Пит-Тал, 1997. - С. 158.
6. Бабаева О.Б. Применение углекислотного и гелий-неонового лазеров в лечении длительно незаживающих ран и язв: Дис. …канд. мед. наук: 14.00.27 / О.Б. Бабаева. – М., 1989. – 103 с.
7. Баиров Г.А. Гнойная хирургия детей: руководство для врачей / Г.А. Баиров, Л.М. Рошаль. – Л.: Медицина, 1991.- 272 с.
8. Баиров Г.А. Срочная хирургия детей: руководство для врачей / Г.А. Баиров. – СПб.: Питер Пресс, 1997.- С. 27-31.
9. Байбеков И.М. Сравнительная характеристика изменений кожи при воздействии различными видами низкоинтенсивного лазерного излучения / И.М. Байбеков // Научный центр хирургии Минздрава Р. Узбекистан. “Анналы”.- Т.1. – Ташкент, 1994. – С. 312-318.

10. Баярт Б. Интерлейкины и другие медиаторы в клинической иммунологии / Б. Баярт, Т.П. Иванюшко, В.Г. Юрканский. – М., 1989. – С. 83–87.

11. Безмикробный метод лечения ран у детей: итоги и перспективы / Ю.Ф.Исаков, В.П.Немсадзе, Е.Н.Кузнечихин и др. //1 Конгресс ассоциации хирургов им. Н.И. Пирогова (1996 г., г. Ташкент). – Ташкент, 1996. - С.28-29.

12. Белобородова Н.В. Иммунологические аспекты послеоперационного сепсиса / Н.В.Белобородова, Е.Н. Бачинская // Анестезиология и реаниматология.- 2000.- №1.- С. 59-66.

13. Белоцкий С.М. Иммунология хирургической инфекции / С.М.Белоцкий // Науч. обзор; Под ред. Б.М. Костюченка. - Вып.1. - М.: ВНИИМИ, 1980.-257 с.

14. Белоцкий С.М. Эффект хирургии на фагоцитарную систему больных / С.М. Белоцкий //Хирургия. - 1985. - №2. - С.92-94.

15. Бондарев Г.А. Применение низкочастотного ультразвука перитонита в эксперименте и клинике: Дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / Г.А. Бондарев. – Курск, 1981. – 95 с.

16. Бондаренко Н.М. Применение низкочастотного ультразвука в комплексном лечении острых гнойных заболеваний пальцев и кистей / Н.М.Бондаренко, Н.Г. Головченко // Хирургия. – 1985. - №5. – с. 38-40.

17. Булава Г.В. Оценка эффективности иммуномодуляторов при лечении больных с гнойно-септическими послеоперационными осложнениями / Г.В.Булава, В.П.Никулина // Хирургия. - 1996. - № 2. - С.104-107.

18. Буланова А.А. Иммунотерапия при остром аппендиците у детей / А.А. Буланова, З.А. Аханзарипов // Хирургия. - 1994.- № 8. - С. 34-36.

19. Варюшина Е.А. Изучение механизмов местного иммуностимулирующего действия интерлейкина – 1β. Повышение продукции провоспалительных цитокинов в очаге воспаления под влиянием интерлейкина – 1β / Е.А. Варюшина, А.Ю. Котов, А.С. Симбирцев // Иммунология. – 2000. – № 4. – С.45–48.

20. Вершигора А.Е. Клеточные и молекулярные основы местного иммунитета / А.Е. Вершигора, В.В. Овод // Успехи современной биологии. – 1981. – №3. – С. 393–408.

21. Винницкий Л.И. Диагностические возможности современных иммунных технологий в хирургической клинике / Л.И. Винницкий // Аллергология и иммунология. – 2002. – Т.3, № 1. – С. 198-204.

22. Влияние лазерного излучения на аэробные, микроаэробные анаэробные микроорганизмы / Л.Г.Баженов, Г.М. Садыкав // Международная науч.-практ. конф. (1995 г., Бишкек). – Бишкек, 1995. – С.63.

23. Волков А.Г. Роль местной иммунокоррекции у больных риносинуситами / А.Г. Волков, Е.В. Химичева // Новости оториноларингологии и логопатологии. – 1997.– № 4(12). – С. 30–31.

24. Вторичный иммунодефицит с нарушениями иммунорегуляторного звена при гнойной хирургической инфекции /Э.Г.Скрябина, Х.А.Алиханов, М.И.Свиретенко // Всесоюз. Симпозиум с междунар. участием «Иммунодефицит и аллергия» (2-4 дек. 1986г., г. Москва). - М.,

1986.-С.86-87.

25. Высоцкая А.Т. Иммунокоррегирующая терапия в комплексном лечении больных с острыми заболеваниями мягких тканей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: (14.00.36) / А.Т.Высоцкая; Воронеж, 1997. - 23 с.
26. Вялов С.Л. Современные представления о регуляции процесса заживления ран (обзор литературы) / С.Л. Вялов, К.П. Пшениснов, П. Куиндоз // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 1999. - № 1. – С. 49-56.
27. Гадиев С.И. Чрескожное дренирование под контролем ультразвукового аппарата /С.И.Гадиев, А.О.Сафаров, Л.Б. Агаева // Азерб. мед. журн.- 1989.-К 8.- С. 62-65.
28. Ганковская Л.В. Локальная цитокинотерапия: от механизма в клинику / Л.В. Ганковская, Л.В. Ковальчук // Russian Journal of Immunology. – 1999. – Vol. 4 – № 1. – С. 62.
29. Гарфинкель И.В. Использование ультразвука в профилактике и лечении гнойной хирургической инфекции / И.В. Гарфинкель, А.Л. Франкфурт // Хирургия . - 1988. - № 12. – С. 151-156.
30. Генноинженерный человеческий интерферон альфа-2 (Реаферон) в виде мази при лечении некоторых заболеваний кожи и слизистых оболочек / Парфенов В.В., Гребенюк В.Н., Абрамова Е.И. и др. // Антибиотики и химиотерапия. – 1990.- Т. 35, № 9. – С. 38-40.
31. Гистохимические и цитологические особенности гнойных ран лица и шеи после ультразвуковой обработки / А.Б. Шехтер, Н.Н. Бажанов, А.К. Чикорин и др. // В кн.: Актуальные вопросы экспериментальных и клинических исследований. – М., 1983. – С. 80-84.

32. Гнойно-септическая патология у детей. Современные подходы к интенсивной терапии / П.И. Чепуров, И.О. Багдасарян, В.Л. Красилов // Конгр. педиатр. России "Неотложные состояния у детей" (2000 г., г. Москва). – М., 2000.- С. 318.

33. Горбашко А.И. Применение лазера в комплексном лечении гнойных заболеваний и осложнений / А.И. Горбашко, А.А. Самофалов и др. // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. - Т. 33, № 10. –С. 72-75.

34. Горшков С.И. Биологическое действие ультразвука / С.И. Горшков, О.Н. Горбунов, Г.А. Антропов. – М.: Медицина, 1965. – 198с.

35. Горяков А.И. Сочетанное применение низкочастотного ультразвук и гелий-неонового лазерного излучения при лечении гнойных ран: Дис. ... канд. мед. наук 14.00.27 / А.И. Горяков. – Курск, 1987. – 141 с.

36. Гостищев В.К. Бактериальные протеолитические ферменты в гнойной хирургии / В.К. Гостищев, В.Д. Затолокин, В.П.Сажин. - Воронеж: Изд-во ВГУ, 1985.- 84 с.

37. Гостищев В.К. Низкочастотный ультразвук при первичной хирургической обработке гнойных ран мягких тканей /В.К. Гостищев, А.М.Хохлов, Э.Х. Байгоров // Хирургия. - 1985. - № 5. - С. 29-33.

38. Гостищев В.К. Оперативная гнойная хирургия. Руководство для врачей / В.К. Гостищев. - М.:Медицина, 1996. - 416 с.

39. Гостищев. В.К. Ультразвук в лечении инфицированных ран / В.К. Гостищев., Н.В. Стальцев и др. // Вестник хирургии. – 1986. - № 1.- С. 69-70.

40. Грабченко Н.И. Цитокины и невирусные инфекции / Н.И. Грабченко, В.Н. Зоценко, Н.Я. Спивак // Микробиол. журнал. - 1995. - Т. 57, № 6. – С. 63-78.

41. Григорян А.В. Протеолитические ферменты в комплексном лечении ран /А.В.Григорян, А.Б.Шехтер // Хирургия. - 1979. - № 8. - С. 19-23.

42. Демьянов А.В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А.В. Демьянов, А.Ю. Котов, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т.2, № 3. – С. 20-36.

43. Диккер А.Ф. Лечение гнойных ран ультразвуком /А.Ф.Диккер // Областная науч.-практ. конф. по изобретательству и рационализаторству в медицине (1980 г., Омск). - Омск, 1980. - С.36-38.

44. Динамика показателей иммунитета у больных гнойно-септическими заболеваниями / Ю.С.Захаров, В.А.Смирнов // Науч. конф. «Актуальные проблемы иммунологии. Иммунодефициты и иммунокоррекция» (22-23 сент. 1987 г. г. Владивосток), - Владивосток, 1987. - С. 65-66.

45. Дмитриев М.Л. Очерки гнойной хирургии у детей / М.Л. Дмитриев, А.Г. Пугачёв, Н.Л. Кущ.- М.: Медицина, 1973.- 359 с.

46. Долгушин И.И. Роль нейтрофилов в регуляции иммунной реактивности и репаративных реакций поврежденной ткани / И.И. Долгушин, А.В. Зурочка, А.В. Чукичев // Вестн. Рос. Ак. наук. – 2000. - № 2. – С.14-19.

47. Долецкий С.Я. Сепсис у детей (лекция) / С.Я. Долецкий // Хирургия. - 1991.- № 8.- С. 3-8.

48. Дронов А.Ф. Эндоскопическая хирургия у детей. Руководство / А.Ф. Дронов. М.: ГЭОТАР, 2002. – 440 с.

49. Дубров Э.Я. Ультразвуковая обработка в хирургии ран / Э.Я. Дубров, В.В. Черкашен, А.А Орлова // Ультразвук в физиологии и медицине. – Ташкент, 1980. – С. 174-175.

50. Дьяченко П.К. Трудности лечения сепсиса и осложнений гнойных ран / П.К. Дьяченко // Вестник хирургии им. Грекова.- 1982.- № 11.- С. 19-25.

51. Дьяченко С.С. Дальнейшие исследования по применению ультразвуковых колебаний в микробиологии / С.С. Дьяченко, Е.П Бернасовскав, М.Н. Гуревич и др.// В кн.: Вопросы биофизики и механизма действия ионизирующей радиации.- М., 1964.- С. 126-134.

52. Ермоленко П.Л. Местная иммунокоррекция при лечении воспалительных заболеваний гениталий / П.Л.Ермоленко // Гнойно-септические заболевания и осложнения в клинической практике. - М., 1995. - С.28.

53. Зараева З.Ф. Предстимуляция рекомбинантными иммуноцитокинами нейтрофилов больных стафилококковыми инфекциями / З.Ф. Зараева // International J. Immunorehabilitation. – 2002. – Т.4, № 1. – С. 64.

54. Зайцев В.М. Прикладная медицинская статистика / Зайцев В.М., Лифляндский В.Г. – СПб: Издательство СПб Гос. мед. академ, 2000. – 299с.

55. Земсков А.М. Клиническая иммунология / А.М.Земсков. В.М.Земсков, А.В.Караулов. – М.:МИА, 1999. - 608 с.

56. Зуева В. С. Подавление интерфероном развития стафилококковой инфекции / В. С. Зуева, В. П. Кузнецов, Н. Я. Спивак // Антибиотики и мед. биотехнология. - 1985. - № 11. - С. 861-869.
57. Иванов В.В. Влияние низкочастотного ультразвука на пиогенную микрофлору / В.В. Иванов // Хирургия. – 1982. - № 4. – С. 30-33.
58. Иммунокоррегирующая и антиоксидантная терапия в гнойной хирургии /Д.Н.Гаджиев, Р.Я.Алиев, Н.Д.Гаджиев // Конгр. «Актуальные проблемы современной хирургии» (22-25 февраля 2003 г., г. Москва). - М., 2003. - С. 85.
59. Иммунологические характеристики процесса заживления гнойных ран у детей / Т.Н. Свознова. // Современные методы активного хирургического лечения гнойных ран и острых гнойных хирургических заболеваний. - Ярославль, 1980. - С.23-26.
60. Иммунологические проблемы в хирургической практике. Иммунологический мониторинг патологических состояний и иммунореабилитация / К.А. Бунатян // Тез. докл. Всеросс. конф. (1995 г., г. Москва). - М., 1995. – С. 143-144.
61. Иммуномодулирующее влияние препарата Суперлимф на функциональную активность нейтрофилов / С.М. Юдина, И.А. Снимщикова, В.В. Баранова, В.О. Крестинин и др. // Медицинская иммунология. – 2002. – Т.4, № 2. – С. 347.
62. Иммуномодулирующие свойства лейкинферона / Н.Д. Ющук, А.В. Змызгова, И.В. Тутова и др. // Сов. медицина. – 1990. - № 7. – С. 11-14.
63. Исмайлов А.А. Ультразвуковая низкочастотная кавитация в гнойной хирургии / А.А. Исмайлов, Р.А. Кулиев // Вестник хирургии. – 1985. – №2. – С. 146-149.

64. Использование низкочастотного ультразвука при лечении травм и воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области / В.Д. Архипов, Д.А. Трунин, В.П. Кириллова, А.М. Хамадеева // Науч.-практ. конф. фак. последиплом. подгот. (июнь 1995 г., г. Самара). – Самара, 1995. – С. 145-146.

65. Использование новых технологий в лечении гнойно-воспалительных заболеваний / К.И. Макаров, Р.А. Садыков // 1 конгресс ассоциации хирургов им. Н.И. Пирогова (1996 г., г. Москва). – М., 1996.- С. 37-38.

66. Кабанов А.Н. Низкочастотный ультразвук в лечении гнойных ран и полостей / А.Н. Кабанов, А.Ф. Деккер // Вестник хирургии. – 1982. - №11. – С.26-29.

67. Кабанов А.Н. Синдром интоксикации при гнойно-септических заболеваниях / А.Н.Кабанов, В.Н. Астафуров, С.И. Филиппов // Вестник хирургии им. Грекова. - 1993. - №1-2, С. 3-7.

68. Казначеев К.С. Механизмы развития цитокининдуцированного апоптоза / К.С. Казначеев // Гематология и трансфузиология. – 1999. – Т.4, № 1. – С. 40–43.

69. Камаев М.В. Инфицированная рана и ее лечение / М.В. Камаев. – М: Медицина, 1970.-159 с.

70. Карсонова М.И. Иммунокоррегирующая терапия при хирургической инфекции / М.И.Карсонова, Б.В.Пинегин, Р.М.Хаитов //Анналы хирургической гепатологии.- 1999. - Т. 4, № 1. - С.88-96.

71. Карсонова М.И. Иммунопрофилактика и иммунотерапия хирургических инфекций / М.И. Карсонова, Б.В. Пинегин, Р.Н. Хаитов //Практикующий врач.- 1998.-№ 12.- С.5-8.

72.Карсонова М.И. Некоторые общие вопросы иммунитета, иммунодиагностики и иммунотерапии на модели хирургических инфекций / М.И. Карсонова , Т.И. Юдина, Б.В. Пинегин // Мед. иммунология. – 1999. - Т.1, № 1-2. – С. 119-132.

73.Кетлинский С.А. Современные аспекты изучения цитокинов // Russian Journal of Immunology. – 1999. – Vol. 4,№ 1. – С. 46–52.

74.Кетлинский С.А. Цитокины и их антигонисты: теория и практика / С.А. Кетлинский, А.М. Ищенко // Медицинская иммунология. – 1999. – Т.1, № 3–4. – С. 16.

75.Кетлинский С.А. Эндогенные иммуномодуляторы / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев, А.А. Воробьев. – СПб.: Гиппократ, 1992. – 254 с.

76.Ковальчук Л.В. Иммунокоррекция цитокинами / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская, В.А. Левченко // Вестник РГМУ. – 2002. - N3. – С. 6-12.

77.Ковальчук Л.В. Локальная иммунокоррекция цитокинами / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская // Аллергология и клин. иммунология. – 1999. – № 1. – С. 64–71.

78.Ковальчук Л.В. Локальная иммуноцитокинотерапия в лечении воспалительных заболеваний пародонта / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская, Т.П. Иванюшко // Иммунология. – 2000. – № 1. – С. 46–49.

79.Ковальчук Л.В. Медиаторы иммунной системы / Л.В. Ковальчук, В.В. Галактионов. – М.: Медицина, 1981. – 109 с.

80.Ковальчук Л.В. Новые возможности лечения цитокинами: препараты, патология, перспективы / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская // Иммунология. – 1996. – № 2. – С. 67.

81.Комплексная терапия хирургического сепсиса у детей / А.Н. Котляров // VI конгр. педиат. России “Неотложные состояния у детей” (2000 г., г. Москва). – М., 2000.- С. 154.

82.Костинов М.П. Иммунокоррекция в педиатрии / Под ред. М.П. Костинова. - М.: Медицина для всех, 2001. - 240с.

83.Костюченок Б.М. Современные методы активного хирургического лечения гнойных ран и гнойных хирургических заболеваний / Б.М. Костюченок //Современные методы активного хирургического лечения гнойных ран и острых гнойных хирургических заболеваний. - Ярославль, 1980. - С.7-9.

84.Котик Е.Б. Применение низкочастотного ультразвука в комплексном лечении местных форм перитонита у детей: Дис. …канд. мед. наук: 14.00.35 / Е.Б. Котик. – Защищена 1997. – М., 1997. – 115 с.

85.Крайник Е.И. Использование лазерного излучения и низкочастотного ультразвука в лечении гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей у детей: Дис. … канд. мед. наук: 14.00.35 / Е.И. Крайник. – Защищена 1998.- Самарканд, 1998. – С. 117.

86.Кудряев И.В. Метод лечения гнойных заболеваний мягких тканей с использованием углекислотного лазера и низкочастотного ультразвука: Дис. … кан. мед. наук: 14.00.27/ И.В. Кудряев. – М., 1990. – С. 52.

87.Кузин М.И. Раны и раневая инфекция / М.И.Кузин, Б.М. Костюченок. - М., Медицина, 1990. - 591 с.

88.Кузин М.И. Общие принципы лечения гнойных ран / М.И. Кузин, Б.М. Костючёнок, И.П. Кокер //Вестник АМН СССР – 1983. - №8. – С. 45-49.

89. Кузин М.И. Патогенез раневого процесса и общие принципы лечения ран / М.И.Кузин // Современные методы активного хирургического лечения гнойных ран и острых гнойных хирургических заболеваний. - Ярославль, 1980. С. 1-6.

90. Кузин М.И. Применение протеолитических ферментов и эктерицида в гнойной хирургии / М.И.Кузин // Вестник хирургии. - 1979. - № 3. - С.111-112.

91.Кузнецов В.П. Интерфероны как средство иммуномодуляции // Иммунология. – 1987. – № 4. – С. 30–33.

92.Кузнецов В.П. Концепция иммунокоррекции при многофакторных иммунодефицитных состояниях, инфекционных и онкологических заболеваниях / В.П. Кузнецов, Д.Л. Беляев, А.А. Бабаянц // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1996. – № 5. – С. 104–108.

93.Кузнецов В.П. Лейкинферон – механизмы терапевтического действия и тактика иммунокоррекции / В.П. Кузнецов, А.В. Караулов // International J. Immunorehabilitation. – 1998. – № 10. – С. 66-74.

94.Кулешов С.Н. Использование углекислотного лазера при острой хирургической инфекции мягких тканей / С.Н. Кулешов // Хирургия. – 1992. - № 2. – С. 94-101.

95.Куликов Н.Н. Использование недеструктивного лазерного излучения в детской хирургической клинике / Н.Н. Куликов, С.Н.

Горбунов // Реконструктивно-восстановительная хирургия заболеваний детского возраста. – Горький, 1990. – С. 20.

96. Лечение гнойных ран ультразвуковой кавитацией / Н.А. Жанталинова // 1 Конгресс ассоциации хирургов им. Н.И. Пирогова (1996г., г. Ташкент). – Ташкент, 1996.- С. 25-26.

97. Лечение ран у детей / Ю.Ф. Исаков, В.П. Немсадзе, Е.П. Кузнечихин, Г.А. Гинодман. – М.: Медицина, 1990.- 192с.

98. Лившиц Ю.Л. Хирургическая обработка ран у детей с применением CO_2-лазера / Ю.В. Лившиц // Хирургия. – 1989. - № 11. – С. 103.

99. Малашенкова И.К. Интерфероны и индукторы их синтеза: Обзор / И.К. Малашенкова, Э.Б. Тазулахова, Н.А. Дидковский // Тер. архив. – 1998. – № 11. – С. 35–39.

100. Малиновский П.Н. Иммунотерапия хирургического сепсиса / П.Н.Малиновский, Е.А.Решетников // Хирургия.- 1997. - № 1. - С.4-8.

101. Машков А.Е. Обоснование комплексного лечения осложненных форм гнойно-септических заболеваний у детей: Автореф. дисс. ... д.м.н.: (14.00.35)/ А.Е. Машков; М. МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. – М., 1987.- С. 23-26.

102. Маянский А.Н. Клинические аспекты фагоцитоза / А.Н. Маянский, О.И. Пикуза. – Казань: «Магариф», 1993. – 192 С.

103. Медуницын Н.В. Медиаторы иммунного ответа // Russian Journal of Immunology. – 1999. – Vol. 4, № 1. – С. 43–46.

104. Миелопептиды / Р.В. Петров, А.А. Михайлова, Л.А. Фолона и др. – М.:Наука, 2000. – 182с.

105. Михайлова А.А. Индивидуальные миелопептиды – лекарства « нового поколения», используемые для иммунореабилитации /

А. А. Михайлова // International J. Immunorehabilitation. – 1996. – № 2. – С. 27-31.

106. Михайлова А.А. Медиаторы взаимодействия клеток в продуктивную фазу иммунного ответа / А.А. Михайлова, В.И. Новиков, С.В. Сорокин // Иммунология. – 1987. – № 2-3. – С. 12-14.

107. Младенцев П.И. Применение кавитирующего ультразвука и излучения гелий-неонового лазера для лечения гнойных ран в зависимости от фазы течения раневого процесса. Эксперим. – клинич. исследование: Дис. ... канд. мед. наук: (14.00.27) / П.И. Младенцев; Красноярск, 1984.- 182с.

108. Муромский Ю.А. Гнойно-деструктивные заболевания легких и современные принципы их лечения / Ю.А. Муромский, Э.С. Бинецкий, В.И. Семиволков // Хирургия. – 1986. - № 12. – С. 3-13.

109. Нестерова И.В. Современные представления о роли системы нейтрофильных гранулоцитов / И.В.Нестерова, Н.В.Колесникова // Russian Journal of Immunology. – 1999. – Vol. 4, № 1. – С. 22–29.

110. Низкочастотный ультразвук при хирургической обработке раны / С.Н. Игнатенко, Р.В. Макаренкова // II Всесоюз. конф. «Раны и раневая инфекция» (1986 г. г. Москва). – М., 1986.- С. 48-49.

111. Николаев Г.А. Ультразвуковая технология в хирургии / Г.А. Николаев, В.И. Лощилов – М.: Медицина, 1980. – 271с.

112. Нурмухаметова Е. Применение $\gamma_{1в}$ – интерферона при лечении пациентов с сепсисом / Е. Нурмухаметова // Рос. мед. журн. – 1998. - Т.6, № 16. – С. 1069.

113. Обработка гнойной раны пульсирующей струёй антисептика / Б.М. Костюченок, В.А. Карлов, Н.К. Голобородько и др. //Хирургия. – 1982. - №8. – С. 16-19.

114. Оганесян М.А. Клинические основы применения низкочастотного ультразвука в профилактике послеоперационных нагноений, лечении перитонита и гнойных ран: Автореф. дис. … д-ра мед. наук: (14.00.27) / М.А. Оганесян; Пермь. Перм. гос. мед. ин-т. – Пермь, 1988. – 22 с.

115. Особенности этиопатогенеза, клинического течения и причин летальности при хирургическом сепсисе у детей / С.Н. Гисак, С.З. Заскин, В.Ф. Васильев, А.В. Воронов // Материалы конф. «Настоящее и будущее детской хирургии» (2-4 дек. 2000., г. Москва). – М., 2000. – С.68-69.

116. Павлов В.В. Сочетанное использование низкочастотного ультразвука и электрофореза в лечении гнойных ран / В.В. Павлов, В.В. Педдер, Л.Б. Резник // сб. науч. тр. / Омской клин. б-цы. – 1996. – С. 57-59.

117. Павлов В.В. Сравнительные результаты бактерицидного воздействия низкоэнергетического лазера, низкочастотного ультразвука и сочетанного воздействия низкочастотного ультразвука и электрофореза / В.В. Павлов, Л.Б. Резник, Е.В. Наумкина // Сборник науч. тр. / Омской клин. б-цы. – 1996. – С. 47-48.

118. Пальцев М.А. Цитокины и их роль в межклеточных взаимодействиях / М.А. Пальцев // Архив патологии. – 1996.- Т. 58, № 6. – С. 3-7.

119. Патогенетические обоснования дифференциальной иммунокоррекции при гнойно-септических заболеваниях у детей: методические рекомендации / Составители: В.Г. Цуман, А.Е. Машков, В.И. Щербина и др. – М., 1991.- 20с.

120. Пауков В.С. Иммунопатология и морфология хронического воспаления / В.С. Пауков, В.К. Гостищев, Н.Г. Ермакова // Арх. патологии. – 1996. – № 1. – С. 28–30.

121. Петров Р.В. Иммунофармакологические подходы к оценке иммуномодуляторов / Р.В.Петров, Р.М.Хаитов, А.Н. Чередеев // Иммуномодуляторы. - М., 1987.-С. 3-25.

122. Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы и некоторые аспекты их клинического применения / Б.В. Пинегин, Р.М. Хаитов // Клиническая медицина. - № 8. – 1996. - С.43.

123. Поиск новых методов борьбы с внутрибольничными инфекциями / В.Д. Затолокин, И.А. Андреев, Л.Н. Ерофеева и др. // Всеросс. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы экологии, экспериментальной и клинической медицины» (26-27 апреля 2001г., г. Орел). – Орел, 2001. – С. 15-17.

124. Попов В.Ф. Клиническая оценка иммунологической реактивности организма и иммунотерапия при гнойной хирургической инфекции: Автореф. дис... канд. мед. наук: (14.00.27) / В.Ф.Попов. - Астрахань, 1982. -21 с.

125. Потапнев М.П. Влияние цитокинов воспаления на фагоцитоз и бактерицидную активность нейтрофилов человека / П.М. Потапнев, Д.В. Пучковский // Иммунология. – 1992. – № 3. – С.34–36.

126. Применение научно-технических достижений в детской хирургии / Ю.Ф.Исаков, В.И. Гераскин, С.А. Счастный и др. // Хирургия. – 1979. - № 11. – С.3-8.

127. Принципы профилактики иммунного статуса в востановительном периоде хирургической инфекции /Л.К.Евстифеев, М.Н.Калинкин, Д.А.Ломоносов // Конгр. «Актуальные проблемы современной хирургии» (22-25 февраля 2003 г., г. Москва). – М., 2003. - С.97.

128. Проскуров В.А. Клиническая характеристика стафилококковых заболеваний, их иммунотерапия и профилактика: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук (14.00.36) / В.А. Проскуров. - Одесса, 1971. - 32 с.

129. Пути улучшения помощи больным с гнойно-септическими хирургическими заболеваниями / В.Ю.Терещенко, Л.Х. Мавзютов, Г.А. Измайлов // Респ. научн.-практ. конф. «Новые методы диагностики и лечения» (3 июля 1994 г., г. Нижнекамск).- Казань, 1994. – С. 202-203.

130. Рахимов А.У. Лазерная санация и ультразвуковая кавитация при острых гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей у детей / А.У. Рахимов, В.М. Чекмарев // Хирургия. – 1984. - № 8. – С. 48-51.

131. Розинов В.М. Иммунологические критерии прогнозирования гнойно-воспалительных осложнений у детей с множественными и сочетанными травмами опорно-двигательного аппарата / В.М. Розинов // Вест. травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. - М., 1999. - № 4 – С. 21-28.

132. Розинов В.М. Системная профилактика гнойно-воспалительных осложнений у детей с травмами опорно-двигательного аппарата / В.М. Розинов // Науч. тр. Оперативное лечение сложных переломов длинных трубчатых костей у пострадавших с сочетанной травмой. / НИИ им. Склифосовского. - М., 2000. – С. 25-28.

133. Роль иммунокоррекции в профилактике и комплексном лечении госпитальной хирургической инфекции / М.М.Абакумов, Г.В.Булава, Ш.Н.Даниелян // Конгресс «Актуальные проблемы современной хирургии» (22-25 февраля 2003г., г. Москва) – М., 2003. - С.105.

134. Рошаль Л.М. Использование излучения углекислотного лазера при лечении ран у детей / Л.М. Рошаль, Г.Д. Литвин // Вестник хирургии. – 1997. - № 9. – С. 70-72.

135. Самсыгин С.А. Иммунокоррекция и иммунореабилитация больных с вторичным иммунодефицитным состоянием. Ч.2. / С.А. Самсыгин // Детская хирургия.- 2000.- № 2.- С. 35-44.

136. Симбирцев А.С. Иммунотерапия препаратами рекомбинантного интерлейкина–1 бета / А.С. Симбирцев, А.М. Попович, Е.А. Варюшина // Russian Journal of Immunology. – 1999. – Т. 4, № 1. – С. 248.

137. Симбирцев А.С. Интерлейкин–1. Биологические свойства и перспективы применения в клинике / А.С. Симбирцев // Новости оториноларингологии и логопатологии. – 1997.– № 4(12). – С. 10–16.

138. Симбирцев А.С. Интерлейкин-8 и другие хемокины / А.С. Симбирцев // Иммунология. – 1999. - № 4. – С. 9-13.

139. Скобелкин О.К. Применение лазера в хирургии / О.К. Скобелкин, Е.И. Брехов, В.И. Корепанов // Хирургия. - 1983. - № 3. С.15-18.

140. Снимщикова И.А. Иммунопатогенетическая и клиническая характеристика эффективности локальной иммунокоррекции при некоторых гнойно-воспалительных заболеваниях: Автореф. дис. … д.м.н.: (14.00.36) / И.А. Снимщикова; М. РГМУ. – Курск, 2001. – 42с.

141. Соловьев Г.М. Иммунокоррекция, профилактика и лечение гнойно-септических заболеваний /Г.М.Соловьев, И.В.Петрова, С.В.Ковалев. - М.: Медицина, 1987.- 169 с.

142. Сопромадзе М.А. Комбинированное использование инфракрасного, гелий-неонового лазеров, низкочастотного ультразвука и озона в комплексном лечении гнойных ран / М.А. Сопромадзе, К.В. Липатов, А.Ю. Емельянов // Лазер. медицина. – 2000. - № 4. – С. 54-55.

143. Состояние иммунологической системы при гнойной хирургической инфекции / А.П. Редькин, Г.Ф.Шипилов // Всесоюз. конф. «Профилактика, диагностика и лечение аутоиммунных заболеваний и вопросы иммунодефицитов» (1985 г., г. Новосибирск). Новосибирск, 1985. — С.32-33.

144. Сравнительная характеристика иммунореактивности больных с различными формами острой гнойной хирургической инфекции / Б.Г. Девятьяров, А.В. Зурочка // Всесоюз. конф. «Профилактика, диагностика и лечение аутоиммунных заболеваний и вторичных иммунодефицитов» (июнь 1985г., г. Новосибирск). - Новосибирск, 1985. - С.8-10.

145. Стимулирующее и протекторное влияние рекомбинантного интерлейкина-1-β (Беталейкина) на лейкопоэз при химиотерапии злокачественных опухолей / Гершанович М.Л., Кетлинский С.А., Филатова Л.В. и др. // Вопросы онкологии. – 1996.- Т.42, № 6. – С. 13-18.

146. Стручков В.И. Гнойная рана / В.И.Стручков, А.В.Григорян, В.К. Гостищев.- М., 1975.- 310 с.

147. Стручков В.И. Иммунология в профилактике и лечении гнойных хирургических заболеваний / В.И.Стручков, К.Н. Прозоровская, Л.М. Недвецкая. - М.: Медицина, 1978. - 272 с.

148. Сумский В.Д. Динамика некоторых показателей иммунитета при гнойных хирургических заболеваниях мягких тканей: Дис... канд. мед. наук: 14.00.27 / В.Д. Сумский. - М., 1981.- 116 с.

149. Толстых П.И. Фибринолитическая активность тканей и заживление ран / П.И. Толстых, В.К. Гостищев, И.Н. Потапов // Экспериментально-клинические аспекты репаративных процессов и методы их стимуляции. – М., 1977. – С. 76-79.

150. Тотолян А.А. Клетки иммунной системы / А.А. Тотолян, И.С. Фрейдлин. – СПб.: Наука, 2000. – 231 с.

151. Тотолян А.А. Место цитокинов в лабораторной диагностике иммунопатологических состояний // Лаборатория. – 1999. - № 1. – С. 20-22.

152. Тотолян А.А. Современные подходы к диагностике иммунопатологических состояний / А.А. Тотолян // Медицинская иммунология. – 1999. – Т.1, № 1–2. – С. 75–108.

153. УЗК и лазерная терапия при острых гнойных заболеваниях мягких тканей и железистых органов / Я.Н. Шойхет, В.И. Овчинников, Иванов Ю.Я и др. // Хирургия. – 1988. - № 4. – С. 39-41.

154. Улащик В.С. Низкочастотный ультразвук: действие на организм, лечебное применение и перспективы исследования / В.С. Улащик // Вопр. курортологии, физиотерапии и лечеб. физ. культуры. – 2000. - № 6. – С. 3-8.

155. Ультразвук в лечении хирургической инфекции / В.И. Петров, В.И. Лощилов, В.В. Багдасаров // XXX съезд хирургов (1981 г., г. Минск). – Минск, 1981.- С.18-19

156. Федосеева В.Н. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях / В.Н. Федосеева, Г.В. Порядин, Л.В. Ковальчук. – М.: Промедэк, 1993. – 320 с.

157. Фрейдлин И.С. Диагностическая и прогностическая значимость иммуноцитокиновых тестов / И.С. Фрейдлин // Аллергология и клин. иммунология. – 1994. – № 1. – С. 58–63.

158. Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы: развитие, активация, эффекторные функции / И.С. Фрейдлин // Russian Journal of Immunology. – 1999. – Vol. 4, № 1. – С. 9–15.

159. Фримель М. Иммунологические методы / М. Фримель – М.: Медицина, 1980. – 340 с.

160. Фукс Б.Б. Биохимия и гистохимия ран кожи. Очерки по проблеме регенерации / Б.Б. Фукс. - М.Медицина, 1986.- С. 56-74.

161. Хайруллина Р.М. Опыт применения ронколейкина (рекомбинантного интерлейкина-2) в педиатрической

хирургической практике / Р.М. Хайруллина, Р.Ш. Хасанов, Т.М. Коценко // Иммунология. – 1999. - № 3. – С. 55-59.

162. Халилов М.А. Низкоинтенсивное лазерное излучение в сочетании с магнитным полем в комплексном лечении и профилактике послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений: Автореф. дис. ... к.м.н.: (14.00.27) / М.А. Халилов; М. Рос. мед. акад. последипл. образов. – М., 1999. – 26с.

163. Характеристика раневого процесса после ВИЛ - обработки и ферментативного лечения / П.И.Толстых, А.И.Титов, С.А. Вартанян и др. // Хирургия. – 1990. - № 6. – С. 12-15.

164. Хирургические болезни у детей. / Ю.Ф.Исаков, Э.А. Степанов, А.Ф. Дронов, В.П. Немсадзе и др. - М., Медицина, 2002. – С. 620.

165. Хирургические болезни у детей. / Ю.Ф.Исаков, Э.А. Степанов, А.Ф. Дронов, В.П. Немсадзе и др. - М.: Медицина, 1997. – С. 620.

166. Цитологическое обоснование энзимотерапии и наложения вторичного шва у больных с гнойными заболеваниями мягких тканей / В.Д.Затолокин, С.З.Шкляров, С.И.Лемешко // Всесоюз. конф. «Местное лечение ран» (1991 г., г. Москва), - М., 1991. - С.72.

167. Цуман В.Г. Нарушение системы антиинфекционной резистентности организма и их коррекция у детей с осложненными формами гнойно-септических заболеваний / В.Г. Цуман, А.Е. Машков, В.И. Щербина и др. // Детская хирургия.- 2000.- № 1.- С. 16-20.

168. Чаплинский В.В. Ультразвуковая обработка гнойных ран / В.В. Чаплинский // Хирургия. - 1976. - № 6. - С.38-40.

169. Чаплинский В.В. Применение ультразвука при лечении осложненных открытых переломов / В.В. Чаплинский, А.П. Олекса, А.М. Мороа // Хирургия. – 1981. - № 6. – С. 81-83.

170. Черкасская Р.С. Микробиологическая характеристика гнойной раны при лазерном облучении / Р.С.Черкасская, С.М.Нестерова // Хирургия.- 1994. - № 6. - С.32-35.

171. Чернух А.М. Воспаление / А.М.Чернух. - М., 1979. - 448 с.

172. Черных Е.Р. Апоптоз и анергия периферических Т-лимфоцитов при гнойно-септической патологии / Е.Р. Черных, М.Н. Норкин, О.Ю. Леплина // Мед. иммунология. – 1999.- Т.1, № 5. – С. 45-51.

173. Черных Е.Р. Провоспалительные цитокины в лечении хирургических инфекций: от эксперимента к клинике / Е.Р. Черных, О.Ю. Леплина, Ю.А. Сенникова // Russian Journal of Immunology. – 1999. – Vol. 4, № 1. – С. 187.

174. Чуриков А.Н. Влияние острой местной гнойной хирургической инфекции на Т- и В-системы иммунитета: Автореф. дис... канд. мед. наук (14.00.35) / А.Н.Чуриков. - М., 1984. - 32 с.

175. Шапошников Ю.Г. Иммунобиологические факторы заживления ран / Ю.Г.Шапошников, И.В.Кондратьева // Хирургия.- 1981. -№ 5. -С.25-28.

176. Шварцман Я.С. Местный иммунитет / Я.С. Шварцман, Л.Б. Хазенсон. – Л.: Медицина, 1978. – 224 с.

177. Щепеткин И.А. Регуляция функциональной активности нейтрофилов цитокинами / И.А. Щепеткин, Н.В. Чердынцева, Н.В. Васильев // Иммунология. – 1994. – № 1. – С. 4–6.

178. Этиологические аспекты течения хирургической инфекции мягких

тканей / С.Б. Фадеев // Конгресс «Актуальные проблемы современной хирургии» (22-25 февраля 2003г., г. Москва). - М., 2003. - С.109.

179. Эфферентные методы в педиатрии / Ю.Ф. Исаков, Я.М. Луцкий // Всероссийская конф. "Сорбционные, электрохимические и гравитационные методы в современной медицине"(1999г., г. Москва). – М., 1999. - С.46.

180. Юдин В.А. Сравнительная характеристика эффективности средне- и низкочастотного ультразвука в лечении гнойной раны / В.А. Юдин, В.И. Горохов, С.В. Мостыка // Вест. хирургии им. Грекова.-1995. - № 3.- С. 63-64.

181. Юдина С.М. Современные подходы иммунотерапии острых абсцессов легких / С.М. Юдина, И.А. Снимщикова, Ю.П. Селезнев // Медицинская иммунология. – 2000. – Т.2, № 2. – С. 241–242.

182. Юсупов К.А. Разработка и внедрение в хирургическую практику методов лечения гнойных ран мягких тканей с использованием новых раневых покрытий с биологической активностью, лазерного излучения и низкочастотного ультразвука: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук: (14.00.27) / К.А. Юсупов; Москва. ММА им. Сеченова.– М., 1996.– 41 с.

183. Юхтин В.И. Состояние иммунологической реактивности больных при острой гнойной хирургической инфекции / В.И.Юхтин, А.М.Кочетков // Хирургия. - 1982. - № 3. - С.118.

184. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах /А.А. Ярилин // Иммунология. – 1996. - № 6. – С. 10-23.

185. Abbas A.S. Cellular and molecular immunology / A.S. Abbas, A.H. Lichtman, J.S. Pober. - New York, 1991. - 580 p.

186. Abbas A.S. Cellular and molecular immunology / A.S. Abbas, A.H. Lichtman, J.S. Pober.- Cellular and molecular immunology. 2-nd ed. Saunders Company, 1994, Philadelphia.

187. Abe Y. Therapeutic application of intravenous human natural immunoglobulin preparation. Frontiers in Bioscience 1: p. 26-33, 1996.

188. Aggarwal B. Cytokines from clone to clinic / B.Aggarwal., E. Pocsik // Arch. Biochem. Biophys. - 2000. – Vol. 292. – P. 335—345.

189. Amenta J.S. Proteolysis and cell death / J.S. Amenta, F.M. Baccino // Rev. Biol. Cell. – 1989. – Vol. 21. – P. 401-422.

190. Arends M.J. Apoptosis. Mechanism and role in pathology / M.J. Arends, A.H. Willie // Intern. Rev. Exp. Pathol. – 1991. – Vol. 32. – P. 223-254.

191. Aschcraft K.W. Pediatric surgery / K.W. Aschcraft, Th.M.Holder.- N.Y., 2002.-V.1.-P.384.

192. Ayala A. Differential induction of apoptosis in lymphoid tissues during sepsis: variation in onset frequency, and the nature of the mediators/ A. Ayala, C.D. Herdon , D.L. Lehman // Blood. – 1996. – Vol. 5. – P. 4261-4175.

193. Ayala A. Immune dysfunction in murine polymicrobial sepsis: mediators, macrophages, lymphocytes and apoptosis / A.Ayala, I.H. Chaudry // Shock. – 1996. – Vol. 6. – P. 27-38.

194. Azuma Y. Molecular mechanisms of apoptosis in the immune system / Y. Azuma, H. Kizaki // Nippon. Rinsho. – 1995. – Vol. 53, № 3. – P. 753-760.

195. Bacon K. Chemokines in disease models and Pathogenesis / K. Bacon, J. Oppenheim // Cytokine and Growth Factor Reviews. - 1998. – Vol. 9. - P. 167—173.

196. Baron S. The interferons: mechanisms of action and clinical applications / S. Baron, S. Tyring, W. Fleischmann // JAMA. - 1991. - Vol. 266. - P. 1375— 1384.

197. Battisti C. Increased apoptotic response to 2-deoxy-D-nbose in ataxia-telangiectasia / C. Battisti, P. Formichi, S.A. Tripodi // J. Neurol. Sci. – 1996. – Vol.144, № 1-2. – P. 128-134.

198. Baumann H. The acute phase response / H. Baumann, J. Gauldie // Immunol. Today. – 1994. – Vol. 15. – P. 74-80.

199. Beldon P. Recognising Wound Infection /P.Beldon //Nurs. Times, 2001.-№ 3-4.-P.97.

200. Bellamy C.O.C. Cell death in health disease: the biology and regulation of apoptosis / C.O.C. Bellamy, R.D.G. Malcomso, D.J. Harrison // Semin. Cancer Biol. – 1995. – Vol. 6, № 1. – P. 3.

201. Bene M. Zes immunoglobulinis A / M. Bene, J. Fause, J. Duheille–Consours. Med. – 1984. – Vol. 106. – № 27. – P. 2541–2547.

202. Bernard G. R. N-acetylcysteine in experimental and clinical acute lung injury / G. R. Bernard // Am. J. Med. - 1991. - Vol. 91. - P. 54S—59S.

203. Bessler H. Effects of Dexamethasone on IL-1β, IL-6 and TNF-α production by mononuclear cells of newborns and adults / H. Bessler,

C. Mendel, R. Straussberg // Biology of the Neonate. – 1999. – Vol. 75. – P. 225-233.

204. Bevilacqua M. Endothelial cell-leukocyte adhesion molecules / M. Bevilacqua // Annu. Rev Immunol. - 1993. – Vol. 11. – P. 767—773.

205. Bice P. Immune interferon enhances functional properties of human granulocytes: role of the Fc receptors and effect of lymphotoxin, tumor necrosis factors and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor / P. Bice, M. Kobayashi, M. E. Rossi et al. // J. Immunol. - 1987. – Vol. 138, № 5. - P. 765 -774.

206. Borish L. Activation of neutrophils by recombinant interleukin-6 / L. Borish, R. Rosenbaum, L. Albury // Cell Immunol. - 1989. - Vol. 121. - P. 280— 289.

207. Brandizaeg P. Immunocompetent cells of the upper airway: functions in normal and diseased mucosa / P. Brandizaeg // Eur. Arch. Otorhinolaryng. – 1995. – Vol. 252. – P. 8–21.

208. Brandizaeg P. Molecular and cellular aspects of secretory immunoglobulin system / P. Brandizaeg // Acta Pathol. Microbiol. Scand. – 1996. – Suppl. 103. – P. 1-9.

209. By Tao Fan. Inhibition of apoptosis in chlamydia-infected cells: blockade of mitochondrial cytochrome c release and caspase activation / By Tao Fan, L. Hang, He Hu // The J. of experimental medicine. – 1998. – Vol. 187, № 4. – P. 487-496.

210. Cainzos M.A. Antibiotic Prophylaxis / M.A.Cainzos //New Horiz., 1998. -№ 6.- P.H-19.

211. Carapetis J.R. Epidemiology and prevention of group A-streptococcal infections: Acute respiratory tract infections, skin infections and their sequelae at the close of the twentieth centure / J.R. Carapetis, B.J.

Currie, E.L. Kaplan // Clin. Infect. Dis. – 1999. – Vol. 28(2). – P. 205-210.

212. Carroll M.C. CD21/CD35 in B cell activation / M.C. Carroll // Semin Immunol. - 1998. - № 10(4).- C. 279-286.
213. Cassatella M. A. The production of cytokines by polymorphonuclear neutrophils / M. A. Cassatella // Immunol. Today. - 1995. - Vol. 16. - P. 21—26.
214. Chen L.F. Free Skin Flap for Wound Infection /L.F.Chen //Zhonghua Wai Ke. Za Zhi, 1990. - № 28. - P.410-416.
215. Cleveland J.L. Contenders in Fas/TNF dealth signaling / J.L. Cleveland, J.N. Ihle // Cell. – 1995. – Vol. 81. – P. 479-482.
216. Clinical diagnosis of immune innerear disease / Hug– Lus G. B., Borna B. R., Kinnnney S. E., Calabrese L. H., Nalepo N. I. // Laringoscope. – 1988. – Vol. 98. – № 3. – P. 251–253.
217. Corum G.M. Characteristics and Prevention of Wound Infection / G.M.Corum // J. etNurs., 1993. - № 20. – P.21-25.
218. Davey P.O. Cost-Effectiveness of Antibiotic Prophylaxis of Wound Infection / P.O. Davey // Chemother., 1994. - № 6, Suppl 2. - P.29-33.
219. De Feo M. Deep Sternal Wound Infection: the Role of Early Debridement / M.De Feo, R.Gregorio, C.A.Della et al. //Surgery. Eur. J., 2001. - № 19. –P.811-816.
220. Decker D. Surgical stress induces a shift in the type T-helper cell balance, suggesting down-regulation of cellmediated and upregulation of antibodymediated immunity commensurate to the trauma /D.Decker, J.M.Scbondor, F.Bidlmgmaier. et al. //Surgery, 1996. - № 119. -P.316-325.
221. Delogu G. Neopterin and interleukin 2 soluble receptors as biochemical

markers of cellular immune response to surgical trauma /G.Delogu, G.Reale, J.Marcbei et al. //Ann. Ital. Chir., 1992. - № 63. - P.359-362.

222. Dinarello C. A. The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome / C. A. Dinarello // J. Infect. Dis. - 1991. - Vol. 163. - P. 1177—1184.

223. Dinarello C. The role of interleukin-1 in disease / C. Dinarello, S. Wolff // N. Engl. J. Med. - 1993. – Vol. 328. – P. 106—115.

224. Docke W.D. Immunoparalysis in sepsis – from phenomen to treatment strategies / W.D. Docke, P. Reinke, U. Syrbe // Transplantationsmedizin. – 1997. - Vol. 9. – P. 55-65.

225. Docke W.D. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-treatment /W.D.Docke, F .Randow, U.Syrbe et al. //Nature medicine, 1997. - V.3, № 6. -P.678-681.

226. Doherty T. M. T-cell regulation of macrophage function / T.M. Doherty // Current Opinion in Immunol. - 1995. – Vol. 7. – P. 400—404.

227. Earnshaw W.C. Nuclear changes in apoptosis / W.C. Earnshaw // Curr. Opin. Cell. Biol. – Vol. 7. – P. 337-343.

228. Earnshaw W.C. Apoptosis / W.C. Earnshaw // Curr. Opin. Cell. Biol. – Vol. 1. – P. 154-163.

229. Faist E. Update in the mechanisms of immune suppression of injury and immune modulation / E.Faist, C.Schinkel, S.W.Zimmer //World J. Surg., 1996. № 20. -P.454-459.

230. Fantone J. C. Role of oxygen-derived free radicals and me-tabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions / J. C. Fantone, P. A. Ward // Am. J. Pathol. - 1982. -Vol. 107. - P. 397—418.

231. Fiers W. Tumor necrosis factor. Characterization at the molecular, cellular and in vivo level / W. Fiers // FEBS Letters. - 1991 . – Vol. 285, № 2. - P. 199-211.

232. Figari S. Regulation of neutrophil migration and superoxide by recombinant tumor necrosis factor – a and b – comparison to re-combinant interferon–g and interleukin 1 a / S. Figari, V.A. Mori, M.A. Palladino // Blood. – 1987. – Vol. 70. – № 4. – P. 979–984.

233. Fine S. Biological effects of laser radiation / S.Fine, E. Klein // Advances in Biol. and Med. Physics. – 1965. – Vol.10. – P. 149-225.

234. Gallin J.I. Inflammation: basic principles and clinical correlates / J.I. Gallin, I.M. Goldstein, R. Snyderman. – N.Y.: Raven Press, 1992. – 231 P.

235. Gardner S.E. The validity of the clinical signs and symptoms used to identify localized chronic wound infection /S.E.Gardner //Wound. Repair Regen., 2001.- № 9. -P.178-186.

236. Griffith T.S. The role of Fas L induct apoptosis in immune privilege / T.S. Griffith, T.A. Ferguson // Smm. Tuday. – 1997. –V.18(5). – P. 240–244.

237. Gursel E. Pectoralis major muscle flap for the treatment of mediastinal wound infection in the pediatric population /E.Gursel, K.Pummill, M.Hakimi et al. //Plast. Reconstr. Surg., 2002. - № 11O. - P.844-848.

238. Hale A.J. Apoptosis: molecular regulation of cell death / A.J. Hale, C. A. Smith, L.C. Sutherland // Eur. J. Biochem. - 1996. – Vol. 236, № 1. - P. 1-26.

239. Hamilton J. Colony stimulating factors, cytokines and monocyte-macrop-hages — some controversies / J. Hamilton // Immunol. Today.

- 1993. - Vol. 14. - P. 18— 23.

240. Havell E. A. Evidence that tumor necrosis factor has an important role in antibacterial resistance / E. A. Havell // Ibid. - 1989. – Vol. 143. - P. 2894-2899.

241. Heinrich P. Interleukin-6 and the acute phase response / P. Heinrich, J. Castell, T. Andus // Biochem. J. - 1990. - Vol. 265. - P. 621—629.

242. Hershman M. J. Protective effects recombinant human tumor necrosis factor α and interferon γ against surgicall simulated wound infection in mice / M. J. Hershman, J. D. Pietsch, L. Trachtenberg // Brit. J. Surg. - 1989.- Vol. 76. - P. 1282.

243. Hopf H.W. Wound tissue oxygen tension predicts the risk of wound infection in surgical patients / H.W. Hopf, T.K. Hunt, J.M. West //Arch. Surg., 1997. - № 132. -P.997-1004.

244. Hotchkiss R.S. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock and multiple organ dysfunction / R.S. Hotchkiss, P.E. Swanson, B.D. Freeman // Crit. Care Med. – 1999. – Vol. 27. – P. 1230-1242.

245. Jagels M. A. Mechanisms and mediators of neutrophilic leu-kocytosis / M. A. Jagels, T. E. Hugli // Immunopharmacology. - 1994. - Vol. 28. - P. 1—18.

246. Kernodle D.S. Comparative prophylactic efficacies of ciprofloxacin, ofloxacin, cefazolin and vancomycin in experimental model of staphylococcal wound infection /D.S.Kernodle, A.B.Kaiser //Antimicrob. Agents Chemother, 1994. - № 38. -P.1325-1330.

247. Kroemer G. Pharmacology of T cell apoptosis / G. Kroemer // Adv. Immunol. – 1995. – Vol. 58. – P. 211-296.

248. Kuby J. Immunology – 2-nd ed./ J. Kuby.- Freeman and Co., N.Y., 1994.

249. Kudsk K.A. A randomized trial of isonitrogenous enteral diets after severe trauma. An immune-enhancing diet reduces septic complications /K.A.Kudsk, G.Minard, M.A.Croce et al. //Ann. Surg., 1996. -№224. - P.531-540.

250. Labro M.T. Antibacterial agents — phagocytes: new concepts forbid in immunomodulation / M.T. Labro // Int. J. Antimicrobial Agents. - 1998. - Vol. 10. - P. 11-21.

251. Lahat N. Early IL-2/sIL-2R surge following surgery leads to temporary immune refractoriness /N.Lahat, R.Shtiller, A.Y.Ziotnick //Clin. Exp. Immunol., 1993. -№ 92. -P.482-486.

252. Lanza L. Prednison increases apoptosis in vitro activated human peripheral blood T lymphocytes / L. Lanza, M. Scudelleti, F. Puppo // J. Exp. Immunology. – 1996. –Vol. 103. – P. 482-490.

253. Lennard T.W. The influence of surgical operations on components of the human immune system /T.W.Lennard, B .K.Shenton, A.Borzotta et al. //Br. J. Surg., 1985. - № 72. - P.771-776.

254. Miller M. How Do I Diagnose and Treat Wound Infection? /M.Miller //Br. J. Nurs., 1998. - № 7. - P.335-338.

255. Mosman T.R. Specific assaya for cytokine production / T.R. Mosman, T.A. Fong. – J. Immunol. Meth., 1989, 116, 2, p. 151-158.

256. Nandi P.L. Surgical Wound Infection /P.L.Nandi, R.S.Soundara. K.C.Mak et al. //Hong. Kong. Med. J., - 1999. -№ 5. - P.82-86.

257. Nicola N.A. Guidebook to Citokines and their Receptors / N.A. Nicola.- Oxford, 1994.

258. Ostanin A.A. Immunological markers of the major systemic inflammatory syndromes (SIRS, MARS, CARS) in patients with

surgical infection/ A.A. Ostanin, O.Y. Leplina, C.Y. Shevela // Rus. J. of Immunol. – 2000. - Vol. 5, № 3. – P. 290-299.

259. Poll T. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis / T. Poll, S.J.H. Deventer // Infectious Disease Clinics of North America. – 1999. – Vol. 13. – P. 413-422.

260. Prats G. Toxic shock Due to Streptococcus Group A Following Surgical Wound Infection /G.Prats, T.Gallart //Med. Clin. (Bare.), 1995. - № 104. -P.396-397.

261. Roge H.N. Lymphocyte function in anergic patients /H.N.Roge, N.V.Christou, O.Bubenick et al. //Clin. Exp. Immunol, 1982. -№ 47. - P.151-161.

262. Roitt I. Immunology, 4-th ed./ I. Roitt, J. Brostoff, D. Male.- Mosby, 1997.

263. Roitt I.M. Essential Immunology / I.M. Roitt. – Oxford, 1997. – 458 P.

264. Rothbard J. Interaction between immunogenic peptides and MHC proteins / J. Rothbard, M. Gefter // Annu. Rev. Immunol. – 1991. – Vol. 9. – P. 527-535.

265. Ryhanen P. Decreased expression of class 11 major histocompatibility complex (MHC) molecules on monocytes is found in openheart surgery related immunosuppression /P.Ryhanen, H.M.Surcel, I.Tionen //Ada Anaesthesiol. Scand., 1991.-№ 35.-P.453-456.

266. Savage N. Cytokines: role in inflammation and therapeutic possibilities / N. Savage, P.H. Howrth // Lung & Respiraton. – 1994. – Vol. 11, № 2. – P. 9-11.

267. Sexe A. Pulsatile lavage in the management of postoperative wound infections / A. Sexe, E. Goldstein et all. // Amer. Surg. – 1980. – vol.46, №7. – P. 391-397.

268. Slade M. Immunode pression after major surgery in normal patients /M.Slade, R.L.Simmcris, E.Yinis et al. //Greenbtr. J. Surgery, 1975. - № 78. -P.363-372.

269. Suter P. M. High bronchoalveolar levels of tumor necrosis factor and its inhibitors, interleukin-1, interferon, and elastase, in patients with adult respiratory distress syndrome after trauma, shock, or sepsis / P. M. Suter, S. Suter, E. Gardin // Am. Rev. Respir. Dis. - 1992. - Vol. 145. - P. 1016-1022.

270. The mechanism of inhibition of IL – 2 production / S. Choaib, K. Welte, R. Mertelsmann, B. Dupont // J. Immunol. – 1985. – Vol. 135. – № 6. – P. 2464–2468.

271. Thomson A.W. The Cytokine Handbook / A.W. Thomson // London: Academic Press, 1995. – 615 P.

272. Volk H.D. Monocyte deactivation-rationale for a new therapeutic strategy in sepsis /H.D.Volk, P.Reinke, D.Brausch et al. //Intensive Care MecL 1996. -V.22. -P.474-481.

273. Wierusz-Wysocka B. The influence of increasing glucose concentration on selected functions of polymorphonuclear neutrophils /B.Wierusz-Wysocka. H.Wysocki, A.Wykretowicz et at, 1988. - V.25, № 4. - P.283-288.