

Katarzyna Gołąbek-Dropiewska

Ocena wybranych parametrów reakcji zapalnej
u chorych z mnogimi obrażeniami ciała

Rozprawa doktorska

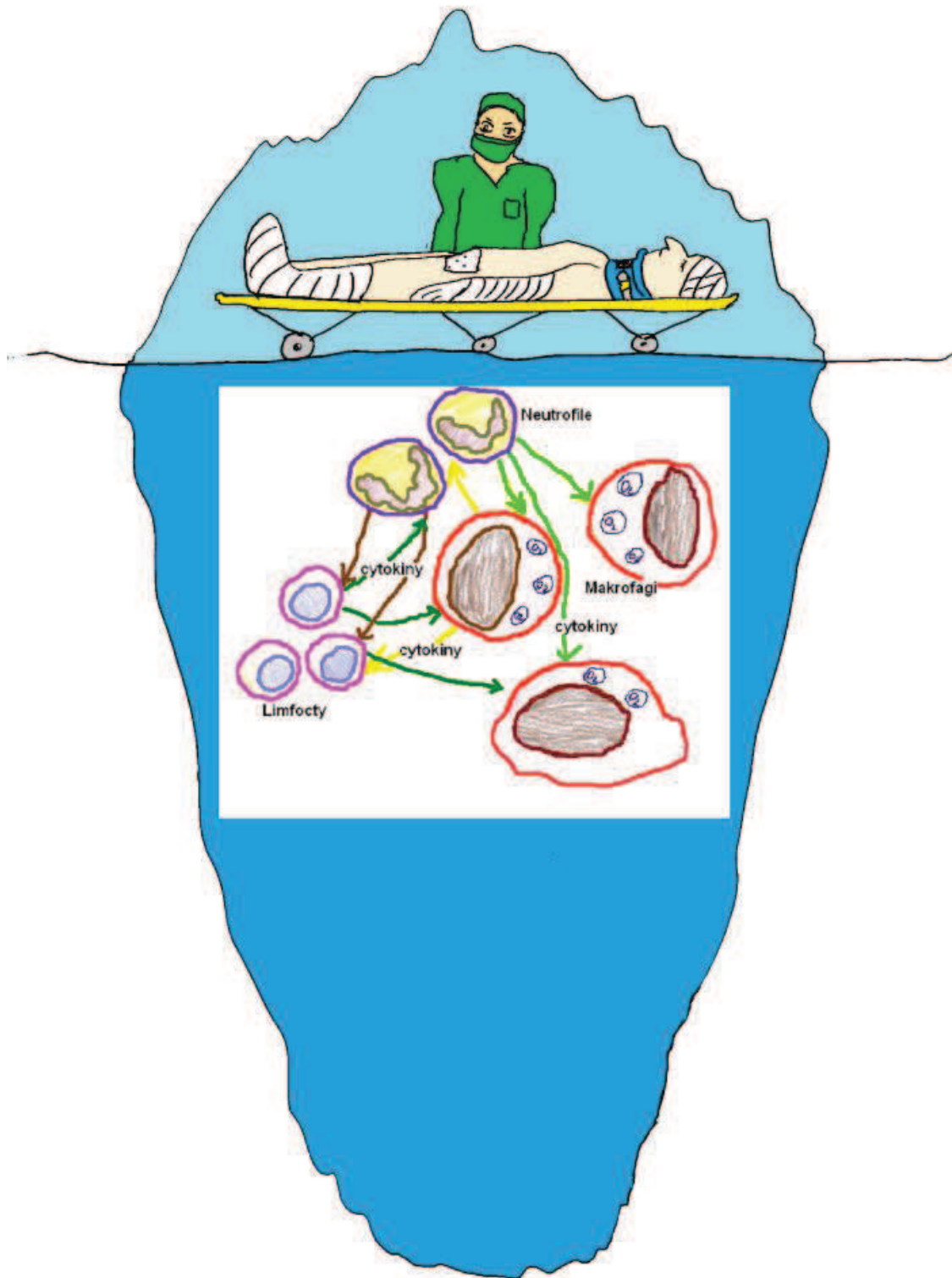
Promotor: Prof. dr hab. n. med. Jerzy Lasek

Miejsce prowadzenia badań:

Katedra i Klinika Chirurgii Urazowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego



Gdańsk 2014



„Najwyższy ideał w medycynie osiąga ten kto łączy znajomość fizjologii i chirurgii z artystyczną stroną swojego rzemiosła”

Theodor Billroth

Podziękowanie dla

Prof. dr hab. n. med. Jerzego Laska – promotora niniejszej pracy, za inspirację i życzliwość oraz pomoc i włożony wysiłek na każdym etapie jej realizacji, poświęcony czas, konstruktywną krytykę oraz motywację do działania, jak również nieocenioną pracę redaktorską.

Prof. dr hab. Jacek M. Witkowskiego - Kierownika Katedry i Zakładu Fizjopatologii wraz z całym Zespołem, za nieocenioną współpracę – oddanie do mojej dyspozycji laboratorium cytometrycznego i całego niezbędnego sprzętu, nauczanie mnie jego obsługi i przeprowadzania samodzielnie badań – w tym ujawnienie sekretów pozwalających na uzyskanie jak najbardziej wiarygodnych wyników, również za rady i ocenę pierwszych wyników i motywację do dalszej pracy.

SPIS TREŚCI

Spis Używanych skrótów:	7
I. Wstęp	10
1. Rys historyczny	10
1.1. Leczenie następstw urazów	10
1.2. Stan zapalny	15
2. Mnogie obrażenia ciała (MOC) – rosnący problem czasu pokoju	17
2.1. Definicja	17
2.2. Epidemiologia urazów	18
2.3. Choroba urazowa	19
2.4. „Early Total Care”, czy „Damage Control”?	20
2.5. Urazy jako poważny problem naszych czasów	22
3. Reakcja zapalna - odpowiedź na uraz	23
3.1. Przebieg zapalenia	23
3.2. SIRS i CARS	24
3.3. Krótki przegląd badań naukowych dotyczących reakcji zapalnej w odpowiedzi na uraz	25
II. Cele pracy:	26
III Materiał i metody	27
1. Materiał badawczy	27
1.1. Grupa badana (Gb)	27
1.2. Grupy kontrolne (G1, G2)	30
2. Metody przeprowadzenia badania:	33
2.1. Badania podstawowe	33
2.2. Badania własne	34
2.3. Analiza poziomu cytokin	34
2.4. Badanie aktywności fagocytozy	36
2.5. Ocena „wybuchu tlenowego”	39
2.6. Analiza wyników	40
IV Wyniki	42
1. Podstawowe parametry reakcji zapalnej	42
1.1. Grupa chorych z mnogimi obrażeniami ciała (MOC)	42
1.2. Grupa kontrolna – chorzy z pojedynczymi obrażeniami ciała	46
1.3. Porównanie pomiędzy grupami chorych z mnogimi (Gb) i pojedynczymi (G2) obrażeniami ciała.	50
1.4. Ocena zależności podstawowych parametrów stanu zapalnego od płci i wieku pacjentów.	52

1.5. Ocena zależności podstawowych parametrów reakcji zapalnej od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS	53
1.6. Zależność pomiędzy parametrami stanu zapalnego, a lokalizacją obrażeń oraz występowaniem chorób dodatkowych	55
1.7. Zależność pomiędzy parametrami reakcji zapalnej, a postępowaniem leczniczym t.j. przetoczeniem preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego	56
1.8. Ocena podstawowych parametrów stanu zapalnego w zależności od występowania powikłań infekcyjnych	58
2. Analiza poziomu wybranych cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych	59
2.1. Grupa chorych z mnogimi obrażeniami ciała	59
2.2. Grupa kontrolna G2 – chorzy z pojedynczymi obrażeniami ciała	62
2.3. Grupa kontrolna zdrowych ochotników G1	64
2.4. Porównanie pomiędzy grupami Gb, G2 i G1.	65
2.5. Poziomy cytokin w zależności od płci i wieku	67
2.6. Ocena poziomu badanych cytokin w zależności od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS	67
2.7. Ocena poziomu badanych cytokin w zależności od lokalizacji doznanych obrażeń i występowania chorób istniejących przed urazem	70
2.8. Zależność poziomu badanych cytokin od postępowania leczniczego – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego	72
2.9. Korelacja pomiędzy stężeniem badanych cytokin, a występowaniem powikłań infekcyjnych	72
3. Aktywność fagocytarna komórek żernych	73
3.1. Chorzy z mnogimi obrażeniami ciała (Gb)	73
3.2. Grupa kontrolna chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2)	76
3.3. Grupa kontrolna zdrowych ochotników (G1)	78
3.4. Porównanie badanych parametrów aktywności fagocytozy między grupami	79
3.5. Aktywność fagocytozy w zależności od płci i wieku chorych po urazie	82
3.6. Zależność parametrów fagocytozy od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS	84
3.7. Zależność badanych parametrów fagocytozy od lokalizacji obrażeń i występowania chorób współistniejących	86
3.8. Zależność badanych parametrów fagocytozy od postępowania leczniczego – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego	90
3.9. Korelacja pomiędzy wartością badanych parametrów fagocytozy, a występowaniem powikłań zakaźnych	93
4. Aktywność przeciwbakteryjna komórek żernych na podstawie analizy „wybuchu tlenowego”	94
4.1. Chorzy z mnogimi obrażeniami ciała (Gb)	94
4.2. Grupa kontrolna chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2)	98
4.3. Grupa kontrolna zdrowych ochotników (G1)	100

4.4. Porównanie między grupą badaną i grupami kontrolnymi	102
4.5. Aktywność „wybuchu tlenowego” w zależności od płci i wieku	106
4.6. Zależność parametrów „wybuchu tlenowego” od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS.....	113
4.7. Zależność badanych parametrów „wybuchu tlenowego” od okolicy doznanych obrażeń i występowania chorób współistniejących.....	116
4.8. Zależność badanych parametrów „wybuchu tlenowego” od postępowania leczniczego t.j. przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego.....	119
4.9. Korelacja pomiędzy wartością badanych parametrów „wybuchu tlenowego”, a występowaniem powikłań zakaźnych.	119
V Omówienie i dyskusja	123
1. Podstawowe parametry stanu zapalnego	124
1.1. Odczyn Biernackiego	124
1.2. Poziom leukocytów we krwi obwodowej.....	125
1.3. Poziom białka C-reaktywnego CRP	126
2. Poziomy cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych.....	129
3. Fagocytoza i „wybuch tlenowy”	132
4. Procedury elektywne – „timing” u chorych po urazie.....	137
VI Wnioski.....	138
Streszczenie:	140
Abstract.....	142
VII Bibliografia:	144
VIII Aneks	152
1. Podstawowe parametry reakcji zapalnej	152
1.1. Ocena zależności podstawowych parametrów stanu zapalnego od płci i wieku pacjentów	152
1.2. Ocena zależności podstawowych parametrów reakcji zapalnej od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS	152
1.3. Zależność pomiędzy parametrami stanu zapalnego, a lokalizacją obrażeń oraz występowaniem chorób dodatkowych.	154
1.4. Zależność pomiędzy parametrami reakcji zapalnej, a postępowaniem leczniczym – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego.....	157
1.5. Ocena podstawowych parametrami stanu zapalnego, w zależności od występowania powikłań infekcyjnych.	160
2. Analiza poziomu wybranych cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych	163
2.1. Poziom cytokin w zależności od płci i wieku.....	163
2.2. Ocena poziomów badanych cytokin w zależności od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS.....	163
2.3. Ocena poziomów badanych cytokin w zależności od lokalizacji doznanych obrażeń i występowania chorób dodatkowych przed urazem.	163

2.4. Zależność poziomu badanych cytokin od postępowania leczniczego – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego	166
2.5. Korelacja pomiędzy stężeniem badanych cytokin, a występowaniem powikłań infekcyjnych.....	166
3. Aktywność fagocytarna komórek żernych.....	168
3.1. Aktywność fagocytozy w zależności od płci i wieku.	168
3.2. Zależność parametrów fagocytozy od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS	171
3.3. Zależność badanych parametrów fagocytozy od lokalizacji obrażeń i występowania chorób dodatkowych.	171
3.4. Zależność badanych parametrów fagocytozy od postępowania leczniczego – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego.....	173
3.5. Korelacja pomiędzy wartością badanych parametrów fagocytozy, a występowaniem powikłań zakaźnych.....	173
4. Aktywność przeciwbakteryjna komórek żernych na podstawie analizy „wybuchu tlenowego”	175
4.1. Aktywność „wybuchu tlenowego” w zależności od płci i wieku	175
4.2. Zależność parametrów „wybuchu tlenowego” od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS	175
4.3. Zależność badanych parametrów „wybuchu tlenowego” od okolicy doznanych obrażeń i występowania chorób współistniejących.....	175
4.4. Zależność badanych parametrów „wybuchu tlenowego” od postępowania leczniczego – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego.....	176
4.5. Korelacja pomiędzy wartością badanych parametrów „wybuchu tlenowego”, a występowaniem powikłań zakaźnych.	177

SPIS UŻYWANYCH SKRÓTÓW:

AIS – Abbreviated Injury Scale - skrócona skala ciężkości obrażeń

ARDS – Acute Respiratory Distress Syndrome – zespół ostrej niewydolności oddechowej

Bbak% - odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E.coli*

BbakGm - średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (BbakGm)

Bbakilo - iloczyn procentu komórek aktywnych i średniej fluorescencji w odpowiedzi na bakterie *E.coli* odpowiadające całkowitej sprawności „wybuchu tlenowego”

Bfmlp% - odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na FMLP - N-formylometionyloleucynylofenyloalaninę

BfmlpGm - średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na FMLP - N-formylometionyloleucynylofenyloalaninę

Bfmlpilo - iloczyn procentu komórek aktywnych i średniej fluorescencji w odpowiedzi na FMLP - N-formylometionyloleucynylofenyloalaninę

Bpma% - odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na PMA - octan mirystynianu forbolu

BpmaGm - średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na PMA - octan mirystynianu forbolu

Bpmailo - iloczyn procentu komórek aktywnych i średniej fluorescencji w odpowiedzi na PMA - octan mirystynianu forbolu

CARS - Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome - zespół kompensacyjnej reakcji przeciwzapalnej

CHNS – choroba niedokrwienna serca

CRP – C reactive proteine – białko C – reaktywne

DHR – dihydrorodamina

DIC – Disseminated Intravascular Coagulation - zespół wykrzepiania wewnątrznaczyniowego

DM - diabetes mellitus - cukrzyca typu II

EBM – Evidence Based Medicine – medycyna oparta na dowodach

ESR – Erythrocyte Sedimentation Rate

ETC – Early Total Care –metoda postępowania z chorymi z MOC polegająca na zaopatrzeniu wszystkich uszkodzeń w krótkim czasie od urazu

F% - odsetek komórek aktywnych fagocytarnie

FFP – Fresh Frozen Plasma – osocze świeżo mrożone

FGm – średnia fluorescencja odpowiadająca aktywności fagocytarnej komórek żernych

Filo - iloczyn średniej fluorescencji (FGm) i procentu komórek aktywnych (F%), odpowiadający realnej aktywności fagocytozy

FMLP - N-formylometionyleucynylofenyloalanina – czynnik chemotaktyczny

FMLP - N-formylometionyleucynylofenyloalaninę

G mean/Gm – średnia fluorescencja

G1 – grupa chorych z obrażeniami pojedynczymi

G2 – grupa kontrolna zdrowych ochotników

Gb – grupa badana

GCS - Glasgow Coma Scale - skala śpiączki Glasgow

IL – interleukina

INF – interferon

ISS – Injury Severity Score - wskaźnik ciężkości obrażeń

KKCz – koncentrat krwinek czerwonych

KOR – Kliniczny Oddział Ratunkowy

MOC – mnogie obrażenia ciała

MODS – Multiple Organ Dysfunction Syndrome – zespół dysfunkcji wielonarządowej

MOF – Multiple Organ Failure – niewydolność wielonarządowa

NK – Natural Killers – „naturalni zabójcy” – komórki o naturalnej cytotoksyczności

NT – nadciśnienie tętnicze

OB – odczyn Biernackiego

PCT - prokalcytonina

PMA - octan mirystynianu forbolu – aktywator kinazy białkowej C

RTS – Revised Trauma Score - zmodyfikowana skala ciężkości obrażeń

SIRS - Systemic Inflammatory Response Syndrome - zespół uogólnionej reakcji zapalnej

TNF – Tumor Necrosis Factor – czynnik martwicy nowotworu

ZZA – zespół zależności alkoholowej

I. WSTĘP

1.Rys historyczny

1.1. Leczenie następstw urazów

Zarówno ludzie, jak i zwierzęta ulegają urazom od zawsze. U zarania dziejów ludzkości urazy doznawane podczas poszukiwania pożywienia oraz walki o nie i terytorium z innymi plemionami prowadziło nieustannie do powstawania obrażeń często będących zagrożeniem życia ludzi prehistorycznych. Bazując na swoim własnym doświadczeniu oraz obserwując zwierzęta ludzie poszukiwali metod leczenia lub choć uśmierzania dolegliwości związanych z doznanymi obrażeniami np. unikając obciążania złamanej kończyny, czy ochładzając okolice zmienione zapalnie. W kolejnych etapach rozwoju ludzkości do metod opierających się na empirii dołożono działania zwane przez nas magicznymi – niezwykle obrzędy i zaklęcia. Wszystko to świadczy o fakcie, iż leczenie następstw urazów było trudnym problemem w tamtym okresie. W badaniach archeologicznych stwierdzano zrost kości, choć często w nieprawidłowym ustawieniu, świadczący o pewnych sukcesach w leczeniu doznanych złamań [1].

Rozwój medycyny łączącej magię z wiedzą empiryczną nastąpił w czasach starożytnych. Na podstawie zachowanych zwojów papirusowych (najsłynniejszy Erwina Smitha odnaleziony w okolicach Luxoru w 1865 r., datowany na ok. 1400-1600 r. p.n.e.) poznajemy stan ówczesnej medycyny, w tym technik leczenia obrażeń ciała. Egipcscy kapłani - lekarze podejmowali próby leczenia złamań – unieruchamiając je za pomocą deseczek i lnianych opasek. Krwawienie zatrzymywali za pomocą ucisku lub przyżegania gorącym żelazem. Przeprowadzali również zabiegi chirurgiczne, w tym trepanację czaszki z powodu urazu. Próbowano również leczyć zakażenia ran stosując pastę z miodu, tłuszczu oraz szarpi w celu usuwania treści ropnej i poprawy gojenia. Badania archeologiczne mumii egipskich dowodzą skuteczności wielu z tych procedur. Jednak skomplikowane uszkodzenia, jak np. złamania otwarte, były uważane za obrażenia śmiertelne i pozostawiano je nieleczone [1, 2].

W starożytnych Indiach, chirurgia stanowiła najwyższy stopień wtajemniczenia medycznego. Wobec stosowania licznych kar powodujących oszpecenie i okaleczenie winnego dużą rolę odgrywała chirurgia plastyczna, o ile skazaniec przeżył karę. Rozliczne wojny powodowały rozwój leczenia ran, które szyto warstwowo przy użyciu naturalnych igieł i nici. Lekarze indyjscy podejmowali próby laparotomii i szycia ran jelit często z wykorzystaniem mrówek lub skarabeuszy jako klamerek, jednak liczne zakażenia obniżały znacząco skuteczność takich procedur. W przypadku urazów zalecano, aby najpierw zatamować krwawienie – czy poprzez uniesienie kończyny, czy zalewanie gorącym olejem. Było to swoiste „damage control” tamtych czasów [1, 2].

Prawdziwy rozkwit medycyny w starożytności nastąpił w Grecji i Rzymie. W przypisywanym „Ojcowi Medycyny” Hipokratesowi (460-377 p.n.e.) dziele „Corpus Hippocraticum” prawie połowa prac poświęcona jest chirurgii, w tym leczeniu skutków urazów. Przedstawiono w nich zalecane metody leczenia ran, zwichnięć oraz złamań, w tym wykorzystywanie unieruchomień i wyciągów oraz przebieg zabiegów operacyjnych, w tym trepanacji czaszki. Klasyczny sposób nastawiania zwichniętego stawu ramiennego pochodzi z tego manuskryptu i zwany jest do dziś sposobem Hipokratesa. Sztuka bandażowania płóciennymi opaskami stanowiła centralne miejsce w leczeniu wielu obrażeń ciała. Poważny problem stanowiły krwawienia, których tamowanie bez znajomości opaski naczyniowej było wyzwaniem. Nie brakowało również powikłań i niepowodzeń. Jednakże ropienie rany uznawano za coś pożytecznego i powodującego usunięcie toksyn – „złej krwi” z organizmu. Przeprowadzano również amputacje kończyn – często z powodu złamań otwartych, czy zmiażdżeń powikłanych zakażeniem. Jednak w celu zmniejszenia bólu i krwawienia Hipokrates zalecał przeprowadzanie cięcia w granicach martwych tkanek, co skutkowało niepowodzeniami [1,2, 3].

W starożytnym Rzymie zasady, które dziś nazwalibyśmy rekomendacjami lub standardami w medycynie kreował Galen z Pergamonu (129-199 p.n.e.). Był on początkowo lekarzem gladiatorów, urazy więc stanowiły większość jego codziennej praktyki. Gdy przybył do Rzymu wiele pisał o leczeniu chirurgicznym obrażeń jamy brzusznej, klatki piersiowej i kończyn jednak sam zabiegów w tych okolicach anatomicznych nie wykonywał. Popierał jednak tezę iż każda rana powinna goić się przez ziarninowanie, a ropa była uważana, za zjawisko korzystne – gdyż natura nie tworzy niczego bez celu. W leczeniu stanów gorączkowych i zakażeń stosował liczne leki ziołowe i upusty krwi. Największym problemem i przyczyną błędów w jego rozumowaniu był brak znajomości anatomii – sekcje zwłok były

wówczas zakazane – wykonywał więc jedynie sekcje zwierząt i dane te przenosił na organizm ludzki. Jego błędne założenia stały się podstawą wiedzy medycznej w wiekach średnich i ostatecznie opóźniały rozwój medycyny przez kolejne 15 wieków. Ważną postacią w historii medycyny rzymskiej był Celsus (3r. p.n.e.-64 r.n.e.), choć nie był lekarzem tylko encyklopedystą, w swoich dziełach opisywał szczegółowo zabiegi chirurgiczne i oraz stosowane leki. Szczególnie dużo miejsca poświęcił medycynie wojennej – czyli podstawom chirurgii urazowej – w tym wykorzystywanie opaski naczyniowej nieznannej w starożytnej Grecji [1,2,3].

Pierwsze wieki średniowiecza zwane później „wiekami ciemnymi” były czasem nie tylko zastoju w medycynie, ale i niejednokrotnie cofnięciu się jej do czasów magii. Chrześcijaństwo wniosło koncepcję choroby jako kary za grzechy i Boga jako jedynego uzdrowiciela. Jednocześnie władze kościelne początkowo ograniczyły, a później całkowicie zakazały kapłanom przeprowadzania procedur chirurgicznych jako nieczystych i niegodnych. Wobec czego zabiegi takie zaczęli wykonywać balwierze, kaci, czy łaźniennicy. W leczeniu urazów podejmowali się oni nastawianie złamań i zwichnięć oraz leczenia ran – przez wiele wieków wedle wskazań Galena, tj. przez ziarninowanie. Zastój medycyny w Europie nie zahamował jej rozwoju w krajach Bliskiego Wschodu. Pierwsze dzieło medyczne napisał żyjący w Persji Rhazes – część poświęcił chirurgii, choć sam jej nie praktykował. Natomiast Abul-Kassim Khalaf Ibn Abbas al. Zahravi (936-1013) znany jako Abulkasis jako chirurg praktyk sporządził dzieło Al Tarif, w którym przedstawił instrumentarium i przebieg zabiegów chirurgicznych i po raz pierwszy pokazał je na rycinach. Opisał, między innymi, podwiązywanie dużych naczyń, operacje ortopedyczne i stosowanie przyrządów do korygowania wad postawy [1, 2].

W chirurgii europejskiej dopiero w XII wieku szczególny wkład wniósł Hugo Borgognoni de Lucca (1180-1252), który stosował gąbkę nasączoną opium, konopiami i kilkoma innymi wyciągami roślinnymi, których opary chory wdychał podczas zabiegu w celu uśmierzania bólu. Doświadczenie swoje zdobywał w czasie rozlicznych wojen. Jako pierwszy wykorzystał opatrunek z użyciem alkoholu i na przekór zasadom Galena dążył do leczenia ran przez rychłozrost. Wprowadził też wyściełane szyny unieruchamiające złamania. Z kolei Guido Lanfranchi (1250-1315) znał podwiązywanie naczyń i prosty szew nerwu, odnosił też sukcesy w nastawianiu i leczeniu złamań [1, 2].

Kolejnym wyzwaniem dla chirurgii urazów było wynalezienie prochu strzelniczego. Do Europy proch dotarł w XIV stuleciu. Tradycyjne metody przyżegania ran nie miały tu zastosowania, gdyż dostępne narzędzia nie docierały do drążących ran od pocisków. Stosowano więc zalewanie ran gorącym olejem z różnym efektem. Dopiero Ambroise Pare (1510-1590), który jako cyrulik towarzyszył licznym wyprawom wojennym zauważył, że gdy skończył się olej i wobec jego braku natarł rany maścią z ojeju rózanego, terpentyny i żółtka goiły się one dużo lepiej i zrezygnował ze stosowanej dotychczas metody. Zastąpił też przyżeganie ran podwiązkami naczyniowymi, co umożliwiło mu ulepszenie techniki amputacji. Stworzył też projekty funkcjonalnych aparatów ortopedycznych i protez kończyn, jak również protezę gałki ocznej [1, 2, 3].

Okres renesansu był czasem rozwoju wielu dziedzin życia, w tym medycyny i chirurgii. Przede wszystkim poznano szczegółowo anatomię człowieka dzięki przeprowadzaniu sekcji zwłok. Prym w Europie wiodł Wesaliusz (1514-1564), który wraz ze swoimi studentami studiował ciało ludzkie w specjalnie przygotowanej sali wykładowej. Stworzył bogato ilustrowane dzieło „De Humani Corporis Fabrica”, które stanowiło dokładny podręcznik anatomii ludzkiej. Niestety, nie zostało ono przyjęte pozytywnie, co spowodowało, że Wesaliusz zrezygnował z nauczania anatomii [1].

W leczeniu złamań szczególnie zapisał się Percival Pott (1714-1788), który stworzył obowiązującą do dziś zasadę unieruchamiania dwóch stawów sąsiadujących ze złamaną kością, co poprawiło wyniki ich zachowawczego leczenia. Z kolei Pierre Joseph Desault (1738-1795) był pomysłodawcą nadal stosowanego opatrunku do unieruchomienia obojczyka i stawu ramiennego [1].

Rozwój przemysłu zbrojeniowego spowodował wzrost liczby i ciężkości urazów. Postrzały z broni palnej, w tym artyleryjskiej, powodowały szczególnie ciężkie obrażenia - wieloodłamowe złamania, rozległe uszkodzenia mięśni, naczyń, nerwów oraz wielu narządów. Podstawową metodą leczenia przed odkryciem antybiotyków była natychmiastowa amputacja kończyny. Nadworny chirurg Napoleona Bonaparte Dominique Jean Larrey (1766-1842) zalecał pierwotną amputację kończyny w każdym przypadku rany postrzałowej z uszkodzeniem naczyń krwionośnych, rozkawałkowaniem kości lub znacznymi obrażeniami tkanek miękkich. Miało to zapobiegać rozwojowi zakażenia i zgorzeli, co wówczas było równoznaczne ze śmiercią chorego. Niestety, śmiertelność po zabiegach amputacji sięgała 60 - 70%, jak wynika z opisów przyczyną były infekcje [1, 2].

W chirurgii, również urazowej, przed przełomem XIX i XX stulecia bariery nie do pokonania stanowiły ból, utrata krwi i zakażenia. Pierwszy problem został rozwiązany w XIX wieku. Choć początkowo nikt nie brał na poważnie pracy Humphrya Davy’ego na temat możliwości wykorzystania „gazu rozweselającego” (podtlenku azotu) w celu zniesienia bólu podczas zabiegów, a pokazowy eksperyment Horacego Wellsa (1845r.) zakończył się porażką, wprowadzenie przez Williama Mortona (1819-1868) eteru jako środka znieczulenia ogólnego w 1846 roku pozwoliło na rozwój anestezjologii i umożliwiło jednocześnie postęp w chirurgii pozwalając na prowadzenie znacznie dłużej trwających i precyzyjnych procedur [1, 2].

Utratę krwi podczas procedur zabiegowych hamowano wieloma metodami, jednak krwi utraconej w wyniku urazu i do momentu zatrzymania krwawienia nie można było odzyskać. Już od XVI wieku próbowano przetaczać krew osobom po jej utracie. Stosowano krew zwierząt i ludzi, jednak chorzy zwykle nie przeżywali takich eksperymentów. Dopiero w 1901 roku Karl Landsteiner (1868-1943) przedstawił pracę na temat grup krwi, co po późniejszych uzupełnieniach pozwoliło na uzupełnianie utraconej krwi i przeżycia pacjentów [1].

Chociaż mikroorganizmy zostały opisane już w XVII wieku przez Antoniego Leeuwenhoeka (1632-1723) dopiero 200 lat później zaczęto zastanawiać się nad rozprzestrzenianiem się zakażeń wśród chorych oddziałów zabiegowych. Sprawa ta zyskała na znaczeniu po ogłoszeniu przez Ludwika Pasteura w 1857 roku teorii na temat przenoszenia zakażenia przez znane już wcześniej mikroorganizmy. Wtedy zaczęto stosować pierwsze zasady aseptyki, a później antyseptyki – kwas karbolowy (Joseph Lister 1866r.), później kwas borny. Dopiero w 1890 roku William S. Halsted wprowadził do użytku rękawiczki chirurgiczne. Działania te zmniejszyły znacząco śmiertelność w oddziałach położniczych oraz po zabiegach planowych. Rany urazowe jednak nadal skutkowały dużą liczbą zakażeń i wysoką śmiertelnością – nie sposób zapobiec ich kontaminacji. Przełom nastąpił dopiero w wieku XX, gdy Aleksander Fleming (1881-1955) w 1928 roku zauważył, iż pleśń, która wyrosła w obrębie płytki z hodowlą gronkowca, którą pozostawił w laboratorium przed urlopem zahamowała wzrost bakterii w jej pobliżu. Zbadał ten fenomen i tak odkrył pierwszy antybiotyk tj. penicylinę. Badania nad jej stosowaniem prowadzono przez kolejne lata, a szczególnie zintensyfikowano w czasie II wojny światowej, zwłaszcza w Stanach Zjednoczonych. Jej zastosowanie uratowało życie wielu alianckich żołnierzy [1, 2, 4].

Dla leczenia następstw urazów krokiem milowym było również odkrycie i wykorzystanie medyczne promieni X przez Wilhelma Roentgena (1845-1922) w 1895 roku, choć wielu lekarzy i fizyków przypłaciło życiem eksperymenty z ich zastosowaniem, zanim nauczono się stosować je bezpiecznie [1].

W XX wieku nastąpił gwałtowny rozwój medycyny, w tym chirurgii. Doświadczenia wojenne z konieczności spowodowały rozwój chirurgii urazowej i ortopedii. W kolejnych latach pokoju udoskonalano metody leczenia obrażeń kości stosując coraz częściej stabilizację wewnętrzną z użyciem coraz bardziej zaawansowanych materiałów i technik operacyjnych. Rozwinięto leczenie obrażeń tkanek miękkich, naczyń i nerwów. Wprowadzono protezy naczyniowe, techniki mikrochirurgiczne i zaawansowane opatrunki. Pomimo tego, ciężkie urazy, a zwłaszcza powodujące mnogie obrażenia (MOC) nadal stanowią poważny problem kliniczny i społeczny w dobie rozwoju technicznego i wykorzystywania coraz większych sił, prędkości i ciśnień w życiu codziennym [1, 2].

1.2. Stan zapalny

Już w papirusach pochodzących z czasów starożytnego Egiptu występują opisy cech zmian, które dzisiaj określono by jako stan zapalny. Jednak dopiero w I wieku naszej ery Celsus opisał cztery podstawowo składowe zapalenia: *rubor et tumor cum calore et dolore* – zaczerwienienie, obrzęk ze zwiększonym uciepleniem i bólem. Dwa wieki później Galen dowodził, iż proces zapalny wraz z tworzeniem ropy jest naturalnym przebiegiem gojenia i jest dla organizmu korzystny. Teoria ta stała się podstawą działania medyków przez kolejne kilkanaście wieków nie przynosząc jednak korzyści ich pacjentom. I choć William z Saliceto (1210-1280) twierdził iż ropienie jest niekorzystne, a pogląd ten prezentował później John Pringle (1707-1782) dopiero w XIX wieku Rudolf Virchow (1821-1902) dodał piątą cechę stanu zapalnego – *functio laesa* – utratę funkcji i określił zapalenie jako stan patologiczny. I choć jego teoria, iż leukocyty roznoszą bakterie po organizmie była całkowicie błędna przyczynił się znacząco do rozwoju współczesnej patologii i fizjopatologii [1-5].

Julius Cohnheim (1839-1884) po raz pierwszy użył mikroskopu do obserwacji naczyń zmienionych zapalnie w obrębie języka i krezki jelita żaby. Jego opis – zaburzenia przepływu

krwi, obrzęk wywołany zwiększoną przepuszczalnością naczyń oraz migracja leukocytów - jest aktualny do dziś. W 1880 roku, rosyjski biolog Ilja Miecznikow odkrył proces fagocytozy. Obserwował go początkowo u amebocytów larw rozgwiazdy, następnie stwierdził identyczny proces – pochłaniania bakterii przez leukocyty krwi ssaków. Doszedł do wniosku, iż głównym zadaniem zapalenia jest dostarczenie leukocytów w miejsce wniknięcia bakterii w celu ich unieszkodliwienia. Do tej pory twierdzono, iż to osocze zawiera substancje neutralizujące działanie bakterii. Wkrótce stało się jasne, że zarówno komórki (fagocyty), jak i substancje osoczowe (przeciwciała) odgrywają kluczową rolę w przebiegu reakcji zapalnej. Za to odkrycie Miecznikow i Paul Ehrlich (stworzył humoralną teorię odporności) otrzymali nagrodę Nobla w 1908 roku. Do poznania zasad przebiegu odpowiedzi zapalnej przyczynił się również Sir Thomas Lewis, który przeprowadzając proste eksperymenty na własnej skórze stwierdził iż wydzielana w odpowiedzi np. na uraz histamina odpowiada za zmiany naczyniowe w przebiegu zapalenia. Był to pierwszy krok do odkrycia kolejnych chemicznych mediatorów stanu zapalnego (cytokin i chemokin) i stworzenia leków hamujących ten proces [5].

W XX i XXI wieku zapalenie jako proces jest jednym z częściej badanych procesów fizjopatologicznych. Jako składowa praktycznie każdego stanu patologicznego w organizmie stanowi ważny problem kliniczny. Poznano wiele procesów i substancji składających się na przebieg odpowiedzi zapalnej i nadal odkrywane są kolejne. Pozwoliło to na stworzenie metod diagnostyki aktywności stanu zapalnego oraz substancji ten proces hamujących. Jednak nadal w wielu przypadkach jesteśmy bezsilni wobec złożonego procesu odpowiedzi zapalnej i jego zaburzeń.

2. Mnogie obrażenia ciała (MOC) – rosnący problem czasu pokoju

2.1. Definicja

Chory z MOC stanowi wyzwanie dla każdego nawet bardzo doświadczonego chirurga. Jednak nawet zdefiniowanie obrażeń mnogich jest trudne i istnieje co najmniej kilka nie do końca pokrywających się definicji. I tak, w Niemczech przyjęto definicję według Otmara Trentza to „zespół wielu obrażeń o stopniu ciężkości określonym wartością ISS>16 z następową reakcją systemową mogącą doprowadzić do uszkodzenia pozostałych narządów i układów i stanowiącą istotne zagrożenie życia i zdrowia” [6]. W publikacjach pochodzących z Wielkiej Brytanii mnogie obrażenia ciała definiowane są natomiast jako „uszkodzenie co najmniej dwóch narządów lub układów stanowiące potencjalne zagrożenie życia chorego”[9,10,11]. W literaturze znajdujemy też prostą definicję stanowiącą, że obrażenia dające wartość ISS>15 to obrażenia mnogie [6, 12]. Jednak np. Butcher i Balogh nie zgadzają się z tą koncepcją i sugerują, iż powinno się brać pod uwagę obrażenia co najmniej 2 okolic anatomicznych ciała, z których każde określamy w skali AIS na co najmniej 3 punkty z obecnością zespołu SIRS przez co najmniej dobę w ciągu pierwszych 72 godzin od urazu. Definicja ta jest bardziej dokładna, ale dość złożona i daje możliwość postawienia rozpoznania dopiero po 3 dobach od urazu [6 7]. W Polsce przyjęta jest definicja wprowadzona przez Profesora Jerzego Lipińskiego i stanowi ona iż „mnogie obrażenia ciała są to obrażenia dotyczące co najmniej dwóch anatomicznych okolic ciała, przy czym każde z tych obrażeń osobno rozpatrywane wymagałoby hospitalizacji lub specjalistycznego zaopatrzenia”. Wydzielono cztery anatomiczne okolice ciała: głowa i szyja z kręgosłupem szyjnym; klatka piersiowa z kręgosłupem piersiowym; jama brzuszna z przestrzenią zaotrzewnową, kręgosłupem lędźwiowym i krzyżowym oraz narząd ruchu obejmujący miednicę i kończyny. Często wydzielane są dodatkowo tak zwane obrażenia ogólne dotyczące okolic wstrząsorodnych oraz dużych naczyń niezależnie od lokalizacji ze względu na ich duży wpływ na stan ogólny chorego [13]. Tę też definicję przyjęto w obecnej pracy, gdyż pozwala ona na postawienie rozpoznania MOC już przy przyjęciu chorego do szpitala oraz pozwala na porównanie chorych z grupą pacjentów w pojedynczych obrażeniach dotyczącymi analogicznie poszczególnych okolic anatomicznych. Poza tym definicja ta powstała na podstawie doświadczeń w leczeniu urazów

u chorych w naszej strefie etnicznej i kulturowej, a pacjenci kwalifikowani wedle jej wytycznych spełniają najczęściej założenia większości przytoczonych powyżej definicji.

2.2. Epidemiologia urazów

Obecnie według danych WHO urazów doznaje ponad 75 milionów osób rocznie, a prawie 6 milionów umiera w ich wyniku [14]. Przyczynami są głównie wypadki komunikacyjne (40%) oraz wypadki w domu i upadki z wysokości oraz wypadki w domu, urazy doznawane w pracy stanowią ok. 20% zdarzeń. Inne urazy, w tym będące wynikiem przestępstw to ok. 10% przypadków. Rozkład przyczyn urazów w Polsce jest zbliżony do danych światowych. Ok. 23% ofiar ciężkich urazów ginie lub doznaje trwałego uszczerbku na zdrowiu. Są to najczęściej młodzi mężczyźni, w wieku produkcyjnym, co powoduje olbrzymie straty ekonomiczne i społeczne [14]. W USA urazów doznaje 2,4 razy więcej mężczyzn niż kobiet. Są jednak różnice związane z wiekiem. W grupie osób starszych (powyżej 65 roku życia) widoczny jest wyraźny spadek urazowości wśród mężczyzn i znaczny wzrost wśród kobiet. W Stanach Zjednoczonych koszt leczenia chorych po urazach w 2000 roku wynosił ponad 80 miliardów dolarów, co stanowi 2,5% wartości produktu krajowego brutto rocznie. Natomiast koszty związane z utratą produktywności osób po urazach sięgały 400 miliardów dolarów rocznie [15,16]. Dane ekonomiczne w Polsce są analizowane od niedawna i nie ma jeszcze dostępnych informacji na ten temat. Jednak dotychczasowe dane wykazują, iż liczba dni nieobecności w pracy u chorych po urazach jest o ponad 50% wyższa niż u chorych z chorobami układu sercowo-naczyniowego i nowotworami [17].

Następstwa urazów stanowią w Polsce i na świecie trzecią przyczynę zgonów, a w grupie do 45 lat pierwszą. Ogromne są też skutki społeczne związane z niepełnosprawnością chorych po urazach. Mnogie obrażenia ciała jako najcięższe i dotyczące kilku układów i okolic anatomicznych w organizmie można nazwać „głównym sprawcą powyższej sytuacji” [13, 17].

2.3. Choroba urazowa

Ciężkie, zwłaszcza mnogie obrażenia ciała, wiążą się nieodzownie z utratą krwi, bólem i stresem. Czynniki te doprowadzają do zwiększenia zapotrzebowania organizmu na tlen poprzez aktywację układu współczulnego i wydzielanie hormonów stresu (kortyzol, adrenalina). Jednocześnie krwawienie doprowadza do niedoboru nośnika tlenu, co powoduje niedotlenienie tkanek. Komórki przechodzą na metabolizm beztlenowy i produkują zwiększone ilości kwasu mlekowego, co prowadzi do kwasicy metabolicznej. Jednocześnie organizm próbuje powstrzymać krwawienie aktywując kaskadę krzepnięcia. Pobudzenie to w przypadku ciężkich i mnogich obrażeń jest często tak znaczne, iż sprzyja rozwojowi zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC). Jednak czynniki krzepnięcia i płytki krwi są szybko zużywane, co doprowadza do wtórnych zaburzeń krzepnięcia [13, 18, 20].

Sytuacji nie poprawia odpowiedź zapalna organizmu. Jej celem jest przywrócenie homeostazy, ale zbyt intensywne pobudzenie komórek aktywnych immunologicznie oraz wydzielanie przez nie dużych ilości substancji zapalnych (histaminy, kinin, prostaglandyn i białek „ostrej fazy”) powoduje zwiększenie przepuszczalności naczyń i wtórne zmniejszenie objętości krwi krążącej oraz utratę większej ilości białek i czynników krzepnięcia. Dodatkowo z uszkodzonych i obumierających komórek wydostają się metabolity i białka, które wywierają toksyczny wpływ na inne tkanki. W tej wczesnej fazie niejednokrotnie podejmowane są zabiegi mające na celu opanowanie sytuacji i stabilizację chorego. Jednak każda operacja to dodatkowy uraz nasilający reakcję układu odpornościowego, endokrynnego i krzepnięcia. Dochodzi do wtórnego uszkodzenia dotychczas zdrowych tkanek i narządów, tzw. wtórnego ciosu („second hit”) i rozwoju zespołu dysfunkcji wielonarządowej (MODS), a dalej niewydolności wielonarządowej (MOF) [13 19-23].

Dodatkowo chory jest często wychłodzony, przetacza mu się płyny w temperaturze niższej niż temperatura ciała, podaje leki sedujące i przeciwbólowe, które zaburzają termoregulację. Hipotermia nasila zaburzenia krzepnięcia, powoduje spadek objętości wyrzutowej serca, jednocześnie zwiększając opór naczyniowy. Dodatkowo zmniejsza wiązanie tlenu do hemoglobiny i zaburza funkcje komórek immunoaktywnych. Kwasica metaboliczna, zaburzenia krzepnięcia i hipotermia stanowią tak zwaną „triadę śmierci” – bez skutecznego jej zwalczania nie można uratować chorego. Nawet, gdy wyprowadzimy chorego

ze wstrząsu, uszkodzenia i zaburzenia, które już dokonały się w jego organizmie nadal wpływają na jego stan i reakcje. Chory po urazie narażony czynniki szkodliwe z wielu stron. Rurka intubacyjna, dreny, cewniki naczyniowe i moczowe, rany i ewentualne implanty stanowią wrota dla infekcji. Upośledzony układ immunologiczny nie potrafi właściwie zareagować i zwalczyć zakażenia. Profilaktyka antybiotykowa chroni chorego przed „dzikimi” szczepami bakterii i prawdopodobnie niszczy te, które wniknęły do organizmu podczas urazu. Sytuację tę „wykorzystują” jednak szczepy wieloopornych drobnoustrojów szpitalnych i walka o życie chorego rozpoczyna się na nowo [13, 20]. Ocena stanu immunologicznego chorych po ciężkim urazie może pomóc w identyfikacji tych szczególnie zagrożonych i umożliwić wcześniejsze działania profilaktyczne.

2.4. „Early Total Care”, czy „Damage Control”?

W latach osiemdziesiątych promowano tryb postępowania z chorymi z MOC zwany „Early Total Care”. Dążono do zaopatrzenia wszystkich obrażeń w dobie urazu uzasadniając takie postępowanie wczesnym zmniejszeniem dolegliwości bólowych oraz umożliwieniem szybszego uruchomienia chorego, co miało mieć korzystny efekt leczniczy [8, 24, 25]. Niestety, kolejne badania wykazywały, iż taktyka ta u chorych w ciężkim stanie nie przynosi oczekiwanych rezultatów, a czasem wręcz pogarsza stan pacjenta. Harwood i wsp. [8] wykazali znaczącą częstość występowania uogólnionej reakcji zapalnej u chorych z mnogimi obrażeniami, u których pierwotnie stabilizowano złamanie kości udowej gwoździem śródszpikowym. Pape i wsp. zauważyli w swoich badaniach częstsze występowanie ostrej niewydolności oddechowej (ARDS) i niewydolności wielonarządowej (MOF) w tej grupie chorych [8]. Kolejne badania u chorych z pojedynczym obrażeniem tj. złamaniem kości udowej wykazały, iż wczesna pierwotna stabilizacja śródszpikowa nasila reakcję zapalną w ocenie klinicznej i analizie cytokin prozapalnych (IL1, IL6 i IL8), czego nie obserwowano u chorych leczonych w 2 etapach, t.j. pierwotnej stabilizacji zewnętrznej i wtórnym zaopatrzeniu śródszpikowym w terminie późniejszym, po pełniej stabilizacji stanu chorego [25].

Obserwacje kliniczne i kolejne badania doprowadziły do rozwoju postępowania przeciwnego, czyli taktyki „Damage Control”. Zgodnie z jej zasadami w dniu przyjęcia

zaopatrzyć się obrażenia zagrażające życiu chorego; zatem dopuszczalne jest przeprowadzanie operacyjnych procedur ratujących życie, np. laparotomii, czy torakotomii ratunkowej. Natomiast procedury, które nie wpływają bezpośrednio na poprawę homeostazy ustroju i stabilizację stanu chorego przeprowadza się w trybie elektywnym, tj. po ustabilizowaniu stanu chorego [26, 27, 28, 30]. Strategia ta ma na celu skrócenie do koniecznego minimum czasu wczesnych zabiegów operacyjnych, by jak najwcześniej rozpocząć intensywną terapię mającą doprowadzić do przywrócenia homeostazy. Zbyt długi czas trwania zabiegu i zadania choremu kolejnych ran może doprowadzać to wtórnego uszkodzenia narządów i układów („second hit”). Proponuje się więc szybką stabilizację zewnętrzną złamań i sytuacyjne zaopatrzenie obrażeń tkanek miękkich. Badania wykazały, iż skraca to istotnie czas do przekazania do oddziału intensywnej terapii oraz zmniejsza utratę krwi [8, 9, 11, 20, 32]. W sytuacji chorego w stanie bardzo ciężkim, we wstrząsie, z zaburzeniami krzepnięcia i termoregulacji zaleca się również zastosowanie procedur „Damage Control” również w przypadku operacji brzusznych np. założenie tzw. „packingu” zamiast szukania źródła krwawienia w brzuchu pełnym krwi. Postępowanie „Damage Control” zaleca się u chorych z MOC z urazem klatki piersiowej już z ISS>20, u chorych po urazie brzucha i w stanie wstrząsu oraz u wszystkich pacjentów z ISS >40 [8]. Zatem znaczny odsetek chorych z MOC kwalifikuje się do takiego postępowania. Ważnym pytaniem jest, kiedy powinno przeprowadzać się zabiegi wtórne. Sformułowanie „po ustabilizowaniu stanu chorego” brzmi dość enigmatycznie i wieloznacznie. Zwykle decyzja podejmowana jest podczas konsultacji klinicznej po analizie stanu ogólnego chorego, podstawowych parametrów życiowych oraz wyników badań laboratoryjnych. Przyjmuje się, iż w 2-4 dobie po urazie nie powinno się przeprowadzać zabiegów wtórnych, gdyż stan ogólny i immunologiczny chorego jest wówczas niekorzystny. Dlatego też operacje elektywne zazwyczaj przeprowadzane są między 5-8 dobą [29]. Jednak mało jest badań opartych na faktach (EBM) oraz obiektywnych kryteriów popierających takie postępowanie. Niezbędne jest również uwzględnienie takich czynników, jak wiek i dodatkowe obciążenia chorego, które mogą znacząco modyfikować przebieg choroby urazowej.

2.5. Urazy jako poważny problem naszych czasów

Dawniej urazy, w tym powodujące MOC, były związane z walką i głównie czasem wojny. W XX wieku wraz z postępem technicznym nastąpił gwałtowny wzrost liczby urazów oraz zwiększenie ich ciężkości. W latach pięćdziesiątych narastającą liczbę ofiar wypadków określano jako „dżumę XX wieku”, a Sani Seeley nazwał ten stan „zaniedbaną chorobą nowoczesnego społeczeństwa”[2, 17]. Liczba ofiar różnego rodzaju wypadków i związana z nią śmiertelność wzrastała lawinowo w krajach rozwiniętych. Dopiero na przełomie XX i XXI wieku dzięki optymalizacji postępowania z chorymi przyniosły zmniejszenie śmiertelności wśród chorych po ciężkich urazach. Dzięki poprawie systemów bezpieczeństwa pojazdów, kontroli prędkości w ruchu drogowym wprowadzenia i kontroli przestrzegania zasad BHP uzyskano zmniejszenie śmiertelności natychmiastowej tj. na miejscu wypadku. Rozwinięcie systemów ratownictwa medycznego z uwzględnieniem pogotowia lotniczego oraz wprowadzenie zasad postępowania przedszpitalnego (ATLS) i resuscytacji chorego po urazie obniżyło śmiertelność wczesną. Poznanie patofizjologii choroby urazowej przyczyniło się natomiast to zmniejszenie śmiertelności późnej [10, 17].

Śmiertelność z powodu ciężkiego urazu, jak przytoczono powyżej, można podzielić na natychmiastową, wczesną i późną. Przyczynami natychmiastowej śmierci są ciężkie obrażenia takie jak np. rozerwanie aorty lub rdzenia przedłużonego. Przyczynami śmiertelności wczesnej są wstrząs krwotoczny i zagrażające życiu obrażenia jak np. odma płučna, masywny krwotok wewnętrzny, gwałtownie narastający krwiak śródczaszkowy i obrzęk mózgu. Natomiast przyczyny późnej śmiertelności to powikłania zakrzepowo-zatorowe i zakaźne, niewydolność wielonarządowa oraz ciężkie uszkodzenia mózgowia [23]. Zmniejszenie śmiertelności wczesnej to wyzwanie szeroko pojmowanej profilaktyki; dla konstruktorów pojazdów i urządzeń wykorzystywanych przy pracy oraz edukacji społeczeństwa. Ograniczenie zgonów we wczesnej fazie po urazie stanowi wyzwanie medycyny ratunkowej, intensywnej terapii oraz chirurgii stanów nagłych. Do obniżenia późnej śmiertelności przyczynić się może jedynie poznanie stanów doprowadzających do zgonu, wczesne rozpoznanie zagrożeń i stworzenie skutecznych procedur postępowania w sytuacji ich wystąpienia [6, 20, 29, 30, 32].

3. Reakcja zapalna - odpowiedź na uraz

3.1. Przebieg zapalenia

Każde, nawet najmniejsze uszkodzenie tkanek wywołuje reakcje żywego organizmu w postaci zapoczątkowania stanu zapalnego. W następstwie urazu do przestrzeni pozakomórkowej dostają się liczne antygeny zarówno pochodzące ze świata zewnętrznego, jak i z wnętrza zniszczonych komórek. Uszkodzone komórki śródbłónka, a także limfocyty i makrofagi znajdujące się w pobliżu miejsca uszkodzenia zaczynają wydzielać mediatory zapalenia – cytokiny prozapalne (TNF α , IL1b, IL6, IL8, IFN γ), aminy biogenne (histamina), eikozanoidy (leukotrieny, prostaglandyny, tromboksany), białka „ostrej fazy” oraz wolne rodniki tlenowe [5, 19, 20, 21, 22]. Doprowadza to do napływu komórek aktywnych immunologicznie do miejsca zapalenia i wydzielania kolejnych porcji substancji aktywnych. Limfocyty B pobudzane na drodze reakcji „antygen-przeciwciało” również wydzielają cytokiny i chemokiny modyfikujące przebieg reakcji zapalnej. Cytokiny modyfikują również procesy krzepnięcia i fibrynolizy, co ma na celu ograniczenie obszaru zapalenia i oczywiście zaprzestanie krwawienia. Pobudzone monocyty przechodzą w makrofagi i wraz z neutrofilami rozpoczynają fagocytowanie martwych komórek oraz drobnoustrojów. Wewnątrzkomórkowo są one niszczone za pomocą wolnych rodników tlenowych i trawione przy udziale lizozymu [35, 37, 38, 39]. Do rozpoznania zagrożenia dochodzi poprzez reakcję „antygen-przeciwciało” jednak przebieg jej jest kontrolowany przez cytokiny, a efektorami są komórki fagocytujące. Jeżeli udaje się opanować sytuację zwiększa się wydzielanie cytokin przeciwzapalnych (np. IL10). Również wydzielane po urazie hormony stresu – adrenalina i kortyzol zwiększają ich wydzielanie działając immunosupresyjnie. Stan zapalny wygasa i dochodzi do gojenia uszkodzeń. W następstwie ciężkiego urazu, a szczególnie przy obrażeniach mnogich inicjujący czynnik sprawczy jest tak znaczny, że reakcja zapalna przestaje być lokalną, a staje się uogólnioną odpowiedzią organizmu [33, 34, 36, 40].

3.2. SIRS i CARS

Zespół uogólnionej reakcji zapalnej (Systemic Inflammatory Response Syndrome – SIRS) jest częstą odpowiedzią ustroju na uraz. Rozpoznawany jest na podstawie objawów klinicznych i wyników podstawowych badań laboratoryjnych: temperatury ciała $>38^{\circ}\text{C}$ lub $<36^{\circ}\text{C}$, tachykardii (akcja serca $>90/\text{min}$), częstości oddechów $>20/\text{min}$ lub $\text{PaCO}_2 >32\text{mmHg}$ oraz leukocytozy $>12000/\text{mm}^3$ lub $<4000/\text{mm}^3$ [20, 21, 26, 36]. Obecność tych objawów świadczy o walce rozgorzalej w organizmie chorego i znacznym zagrożeniu jego życia. Każdy dodatkowy uraz – np. zabieg operacyjny może w tej fazie doprowadzić do nasilenia zaburzeń krzepnięcia, wydzielania większej ilości szkodliwych składników z uszkodzonych komórek, zwiększenia i tak już ogromnego zapotrzebowania komórek na tlen i innych opisanych powyżej zaburzeń doprowadzając w każdej chwili do zespołu MODS i dalej MOF [37, 41, 42, 43].

Pula komórek aktywnych immunologicznie, jak i substancji, które produkują jest w organizmie ograniczona. Poza tym aktywacja zapalenia prowadzi w konsekwencji do wydzielania również substancji je hamujących. Reakcje neurohormonalne również oddziałują immunosupresyjnie. Stan zapalny wyrządza szkody nie przynosząc oczekiwanych korzyści, więc organizm broni się hamując niekorzystną reakcję [20, 21, 22, 26]. Występuje zespół kompensacyjnej reakcji przeciwzapalnej (Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome - CARS). Przy nasilonym SIRS zespół CARS również osiąga znaczne natężenie doprowadzając do spadku odporności. Chory staje się podatny na infekcje. W tej fazie uraz operacyjny nasilający reakcje zapalne stanowi dodatkowe wrota zakażenia, może doprowadzić w prostej linii do ciężkich powikłań infekcyjnych, w tym do rozwoju posocznicy [36, 37, 41, 42, 43].

W odniesieniu do chorego z MOC nasuwa się pytanie, kiedy operować i w jakiej kolejności. Kiedy jest ten najlepszy moment by przeprowadzić zabiegi elektywne? Najlepiej byłoby podejmować leczenie operacyjne wtedy, gdy SIRS już zacznie wygasać, CARS jeszcze się nie rozwinie, albo już gdy odporność wróci do stanu względnej sprawności. Ale jak określić ten najbardziej właściwy moment? Są to nader trudne pytania. Do tej pory stanowią kontrowersyjne i skomplikowane problemy współczesnej chirurgii urazowej.

3.3. Krótki przegląd badań naukowych dotyczących reakcji zapalnej w odpowiedzi na uraz

Wpływ urazu, w tym operacyjnego na układ odpornościowy był od dość dawna przedmiotem zainteresowania. W badaniach klinicznych u chorych po urazach pojedynczych oraz po oparzeniach wykazano wzrost składnika C3 dopełniacza, który łączono z rozwojem dysfunkcji oraz niewydolności wielonarządowej (MODS/MOF) [44, 45]. Obserwowano zahamowanie aktywności komórek NK w przypadku urazów eksperymentalnych, jak i u chorych po zabiegach operacyjnych [33, 46]. W pojedynczych badaniach wykazywano zaburzenia funkcji fagocytarnej komórek żernych oraz zaburzenia chemotaksji i aktywności przeciwbakteryjnej neutrofili zarówno u zwierząt po urazach doświadczalnych, jak i u chorych po większym urazie operacyjnym i po obrażeniach pojedynczych (urazach głowy i narządu ruchu) [46, 47, 48].

Wielu autorów analizowało wydzielanie cytokin u chorych po obrażeniach pojedynczych, zabiegach operacyjnych, a także u zwierząt po urazie doświadczalnym. Zwrócono uwagę na wzrost IL1, IL6, IL10 oraz TNF w tych przypadkach we wczesnej fazie po urazie. W badaniach tych wskazywano na korelację w/w parametrów, zwłaszcza IL6 z rozwojem powikłań infekcyjnych w tym sepsy. Badano też wartość predykcyjną cytokin dla rozwoju MODS i MOF, jednak wyniki różniły się w zależności od badania. Zwracano też uwagę na funkcje limfocytów T i ich migrację do okolicy doznanych obrażeń. Jednak w różnych badaniach uzyskiwano odmienne wyniki [49, 50, 51, 52, 53].

Niewiele jest jednak badań przeprowadzanych u chorych z MOC. Można jedynie podejrzewać, iż z racji większej ciężkości obrażeń zaburzenia funkcji immunologicznej powinny być bardziej nasilone niż w przypadku chorych po urazie pojedynczym. Nie analizowano też jednocześnie poziomu cytokin pro- i przeciw zapalnych z funkcją komórek żernych (makrofagów i mikrofagów - aktywowanych neutrofili), co może przyczynić się do zobrazowania w pełni zaburzeń części efektorowej układu odpornościowego mającej za zadanie bezpośrednią walkę z drobnoustrojami.

II. CELE PRACY:

1. Analiza wybranych czynników wpływających na przebieg reakcji zapalnej (cytokiny prozapalne i przeciwzapalne) oraz funkcję fagocytów we wczesnej fazie po urazie powodującym mnogie obrażenia ciała (MOC).
2. Ocena przebiegu reakcji zapalnej w zależności od ciężkości obrażeń, ich lokalizacji, wieku i płci chorych oraz czynników obciążających.
3. Próba określenia optymalnego czasu wykonania procedur chirurgicznych elektywnych („timing”) w różnych grupach chorych lub w zależności od wybranych parametrów stanu immunologicznego.
4. Próba identyfikacji zależności pomiędzy badanymi parametrami reakcji zapalnej, a wystąpieniem powikłań infekcyjnych.

III MATERIAŁ I METODY

1. Materiał badawczy

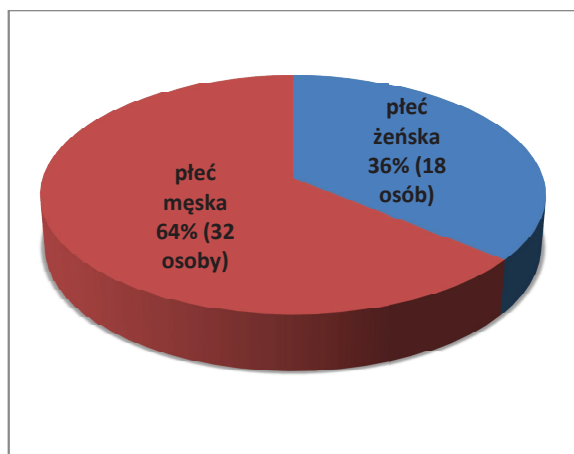
1.1. Grupa badana (Gb)

Do analizy zostali włączeni chorzy z mnogimi obrażeniami ciała (MOC) leczeni w Katedrze i Klinice Chirurgii Urazowej GUMed w latach 2008-2012. Grupa badana (Gb) liczyła 50 osób, w tym 18 kobiet (36%) i 32 mężczyzn (64%) w wieku od 18 do 92 lat (średnia 44,1, mediana 39,5 roku). Obrażenia głowy występowały u 38 chorych (76%), obrażenia klatki piersiowej u 34 chorych (68%), urazów brzucha doznało 18 chorych (36%), obrażenia układu ruchu dotyczyły 37 pacjentów (74%), u 6 chorych (12%) stwierdzono uszkodzenia dużych naczyń i/lub okolic „wstrząsorodnych”. Stan ciężkości obrażeń oceniany był przy pomocy powszechnie stosowanych skal ciężkości obrażeń AIS, ISS, GCS, RTS (AIS – Abbreviated Injury Scale - skrócona skala ciężkości obrażeń, ISS – Injury Severity Score - wskaźnik ciężkości obrażeń, RTS – Revised Trauma Score - zmodyfikowana skala ciężkości obrażeń, GCS - Glasgow Coma Scale - skala śpiączki Glasgow. Wartości ISS w grupie badanej kształtowały się od 18 do 41 (średnia 27,22, mediana 26), natomiast ocena wg GCS w chwili przyjęcia od 9 do 15 punktów (średnia 13,1 mediana 14). Wartości RTS w grupie chorych z MOC w chwili przyjęcia określono na 4,85 do 7,55 (średnia 6,61, mediana 6,81). U 21 chorych (42%) stwierdzono choroby dodatkowe, w tym nadciśnienie tętnicze (NT) u 12 chorych (24%), cukrzycę typu II (DM - diabetes mellitus) u 6 pacjentów (12%), chorobę niedokrwinną serca (CHNS) u 5 chorych (10%), chorobę alkoholową (ZZA) u 4 chorych (8%), u 3 chorych (6%) otyłość patologiczną, u 2 chorych (4%) zaburzenia depresyjne, u 2 jaskrę i u 1-go kamice nerkową. Dziesięciu (20%) pacjentów było obciążonych więcej niż jedną chorobą przewlekłą. Dziewięcioro (18%) chorych było operowanych w trybie ostro dyżurowym, 32 (64%) zaopatrzono w Klinicznym Oddziale Ratunkowy (KOR) – chirurgiczne zaopatrzenie ran, wyciąg szkieletowy lub zamknięte nastawienie złamań i unieruchomienie w opatrunku gipsowym, drenaż jamy opłucnej. Grupę 16 (32%) chorych leczono zachowawczo. Zabiegi planowe (elektywne) wykonywano między 2 a 15 dobą od urazu (mediana 4 doba). Znaczna część chorych, t.j. 20 osób (40%) wymagało przetoczenia koncentratu krwinek czerwonych (KKCz) w pierwszych 5 dobach od przyjęcia,

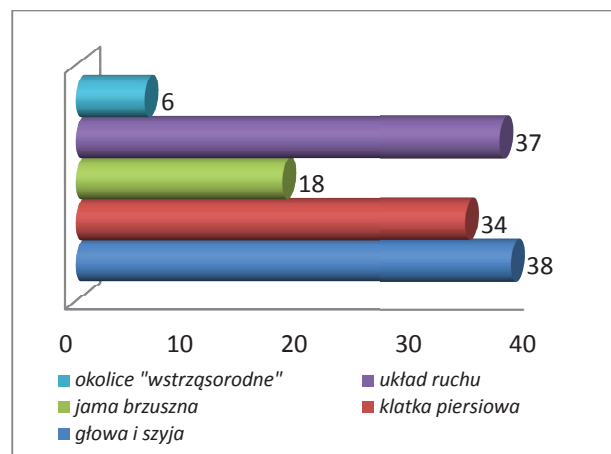
a 5 osobom (10%) przetoczono osocze świeżo mrożone (FFP). Przetoczono od 2-9 j. KKCz oraz 1-3 j. FFP. Powikłania zakaźne wystąpiły u 16 chorych (32%), w tym zakażenie skóry i tkanek miękkich u 12 chorych (24%), zapalenie płuc u 5 chorych (10%), a u jednego chorego wystąpiły oba powikłania. Objawy zakażenia występowały między 7 a 13 dobą od urazu (mediana 8). Powikłania zakrzepowo – zatorowe, pomimo stosowanej profilaktyki wystąpiły u 2 chorych (4%). Wszyscy chorzy otrzymywali od dnia przyjęcia empiryczną antybiotykoterapię dożylną złożoną z Augmentinu oraz Metronidazolu, a w razie uczulenia na Augmentin (3 chorych) z Ciprinolu i Metronidazolu. Od momentu potwierdzenia zakażenia w badaniu bakteriologicznym stosowano antybiotykoterapię celowaną.

Tabela 1. Charakterystyka grupy badanej (Gb)

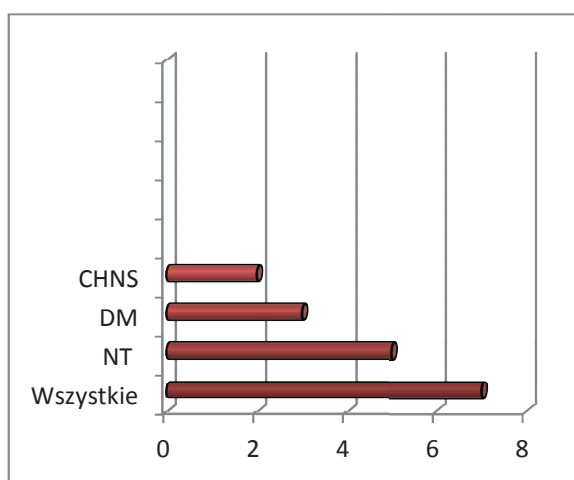
Cecha	Parametry			
Wiek (lata)	Średnia: 44,1	Mediana: 39,5	Minimum: 18	Maksimum: 92
ISS (pkt)	Średnia:27,22	Mediana: 26	Minimum:18	Maksimum: 41
GCS (pkt)	Średnia:13,1	Mediana: 14	Minimum:9	Maksimum:15
RTS (pkt)	Średnia:6,61	Mediana: 6,81	Minimum:4,85	Maksimum:7,55
Zabieg operacyjny	Zaopatrzenie chirurgiczne w KOR: 32 chorych (64%)	Zabieg operacyjny w trybie „ostрым”: 9 chorych (18%)	Zabiegi w trybie elektywnym: 29 chorych (58%) pomiędzy 2 a 15 dobą od urazu	Leczenie zachowawcze 16 chorych (32%)
Leczenie preparatami krwi	KKCz 20 chorych (40%)	FFP 5 chorych (10%)	KKCz – 2-9j.	FFP – 1-3j.



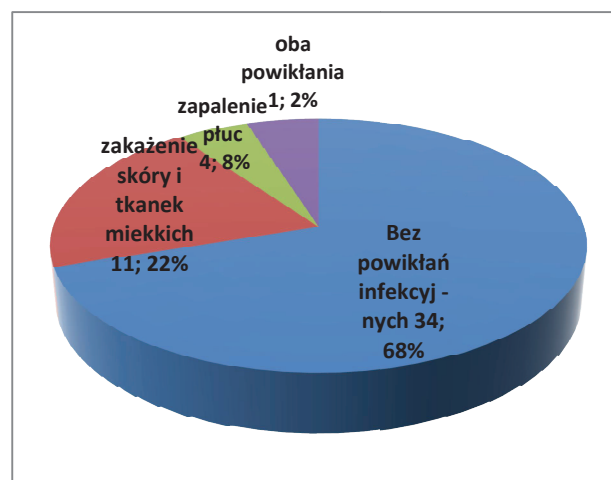
1



2



3



4

Ryciny 1-4. 1 – podział grupy badanej ze względu na płeć, 2 – lokalizacja obrażeń, 3 - choroby występujące przed urazem, 4 – występowanie powikłań infekcyjnych

Z badania wykluczeni zostali:

- chorzy, którym podano przed pierwszym pobraniem krwi leki istotnie wpływające na odpowiedź immunologiczną (kortykosteroidy)
- chorzy z potwierdzonymi przed urazem niedoborami immunologicznymi
- chorzy leczeni preparatami immunosupresyjnymi
- chorzy, którzy nie wyrazili zgody na udział w badaniu lub nie uzyskano zgody sądowej w ciągu 48h od urazu

1.2. Grupy kontrolne (G1, G2)

W badaniu grupy kontrolne stanowili G1 – ochotnicy bez urazu, G2 – chorzy z pojedynczymi obrażeniami ciała. Każda grupa kontrolna liczyła 20 osób. Do grupy G1 zakwalifikowano 8 kobiet (40%) i 12 mężczyzn (60%) w wieku od 23 do 76 lat (średnia 41,3, mediana 40). Pięcioro chorych (25%) było dodatkowo obciążonych, 4 (20%) nadciśnieniem tętniczym, 2 (10%) chorobą niedokrwienną serca i jeden niedoczynnością tarczycy, jeden chory był obciążony dwoma chorobami przewlekłymi. Dobierając grupę kontrolną osobników bez urazu zastosowano analogiczne kryteria wykluczenia, jak w grupie badanej.

Tabela 2. Charakterystyka grupy ochotników bez urazu (G1)

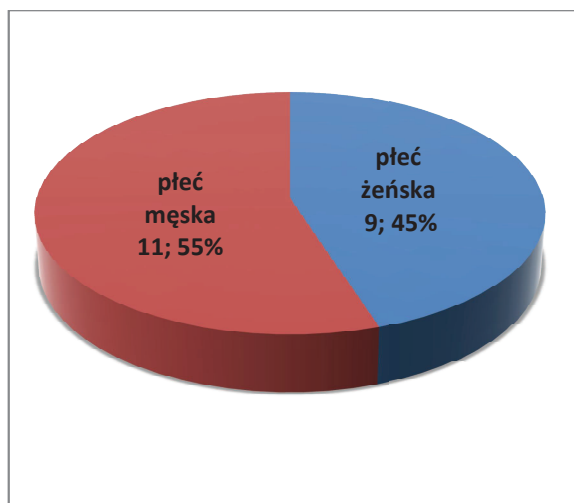
Cecha	Parametry			
Płeć	8 kobiet (40%)		12 mężczyzn (60%)	
Wiek (lata)	Średnia: 41,3	Mediana: 40	Minimum: 23	Maksimum: 76
Dodatkowe obciążenia 5 osób (25%)	NT 4 osób (20%)	CHNS 2 osób (10%)	Niedoczynność tarczycy 1 osoba (5%)	

Do grupy G2 zakwalifikowano chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała leczonych w Klinice Chirurgii Urazowej GUMed w latach 2008-2012. Włączono chorych w wieku 19 do 84 lata (średnia 43,6, mediana 39,5), 9 kobiet (45%) i 11 mężczyzn (55%). 6 chorych (30%) doznało obrażeń głowy, 5 (25%) obrażeń klatki piersiowej i 5 obrażeń narządu ruchu oraz 4 (20%) urazu brzucha. W grupie G2 nie było chorych z izolowanymi obrażeniami dużych naczyń, czy okolic „wstrząsorodnych”. Wartości AIS w grupie G2 wynosiły 3 lub 4, natomiast wartości GCS w chwili przyjęcia kształtowały się od 9 do 15 punktów (średnia 13,75, mediana 14). Wartości RTS w chwili przyjęcia określono na 5,79 do 7,55 (średnia 6,95, mediana 6,81). Siedmiu chorych (35%) było obciążonych chorobami dodatkowymi, w tym 5 (20%) nadciśnieniem tętniczym, 3 (15%) cukrzycą

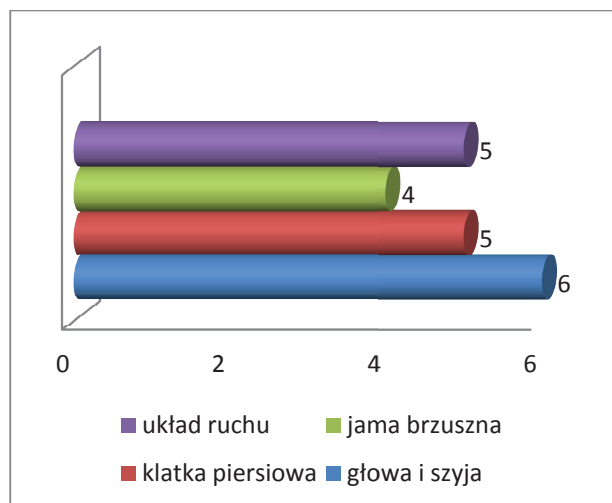
i 2 (10%) chorobą niedokrwienną serca. W 3 przypadkach stwierdzono więcej niż jedno obciążenie. Pięcioro chorych (25%) było operowanych w trybie pilnym, 10 (50%) zaopatrzono w KOR – chirurgiczne zaopatrzenie ran, wyciąg szkieletowy lub zamknięte nastawienie złamań i unieruchomienie w opatrunku gipsowym, drenaż jamy opłucnej. Grupę 10 (50%) chorych leczono zachowawczo. Zabiegi elektywne wykonywano między 2 a 7 dobą od urazu (mediana 3 doba). Znaczna część chorych, t.j. 8 osób (40%) wymagało przetoczenia KKCz w pierwszych 5 dobach od przyjęcia i 2 (10%) FFP. Przetoczono od 2-4 j. KKCz oraz 1 j. FFP. Powikłania zakaźne wystąpiły u 6 analizowanych chorych (30%), w tym zakażenie skóry i tkanek miękkich u 5 chorych (25%), zapalenie płuc u 2 chorych (10%), a u jednego chorego wystąpiły oba powikłania. Objawy zakażenia występowały między 5 a 10 dobą od urazu (mediana 7). Powikłania zakrzepowo-zatorowe wystąpiły u 1 chorego, pomimo stosowanej profilaktyki. Wszyscy chorzy otrzymywali od dnia przyjęcia antybiotykoterapię dożylną złożoną z Augmentinu, a w razie uczulenia na Augmentin (3 chorych) z Ciprinolu. Chorzy z obrażeniami jamy brzusznej oraz ranami brudnymi otrzymywali dodatkowo Metronidazol. Od momentu potwierdzenia zakażenia w badaniu mikrobiologicznym stosowano antybiotykoterapię zgodną z antybiogramem. W grupie G2 zastosowano takie same kryteria wykluczenia, jak w grupie badanej (Gb).

Tabela 3. Charakterystyka chorych w grupie kontrolnej G2

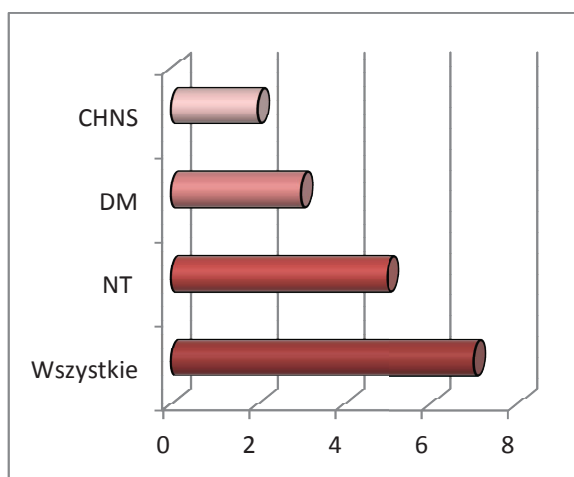
Cecha	Parametry			
Wiek (lata)	Średnia: 43,6	Mediana: 39,5	Minimum: 19	Maksimum: 84
AIS (pkt)	3 - 9 osób (45%)		4 – 11 osób (55%)	
GCS (pkt)	Średnia:13,75	Mediana: 14	Minimum:9	Maksimum:15
RTS (pkt)	Średnia:6,95	Mediana: 6,81	Minimum:5,79	Maksimum:7,55
Zabieg operacyjny	Zaopatrzenie chir. w KOR: 10 osób (10%)	Zab. op. tryb ostry: 5 osób (25%)	Zab. elektywne: 8 osób (40%)	Leczenie zachowawcze 10 osób (50%)
Cecha	Parametry			
Leczenie preparatami krwi	KKCz 8 osób (40%)	FFP 2 osób (10%)	KKCz – 2-4j.	FFP – 1j.



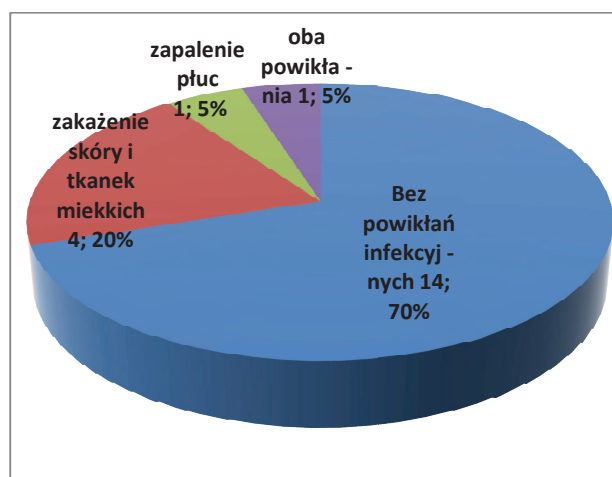
5



6



7



8

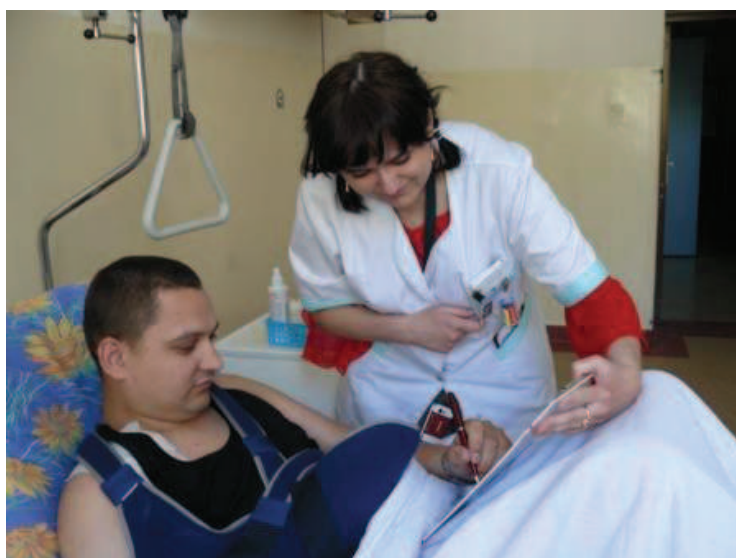
Ryciny 5-8. 5 – podział grupy kontrolnej G2 ze względu na płeć, 6 – lokalizacja obrażeń, 7 - choroby występujące przed urazem, 8 – występowanie powikłań infekcyjnych

2. Metody przeprowadzenia badania:

Na przeprowadzenie badania wyraziła zgodę Niezależna Komisja Bioetyczna ds. Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym nr: NKEBN/37/2008 z dnia 10.03.2008.

2.1. Badania podstawowe

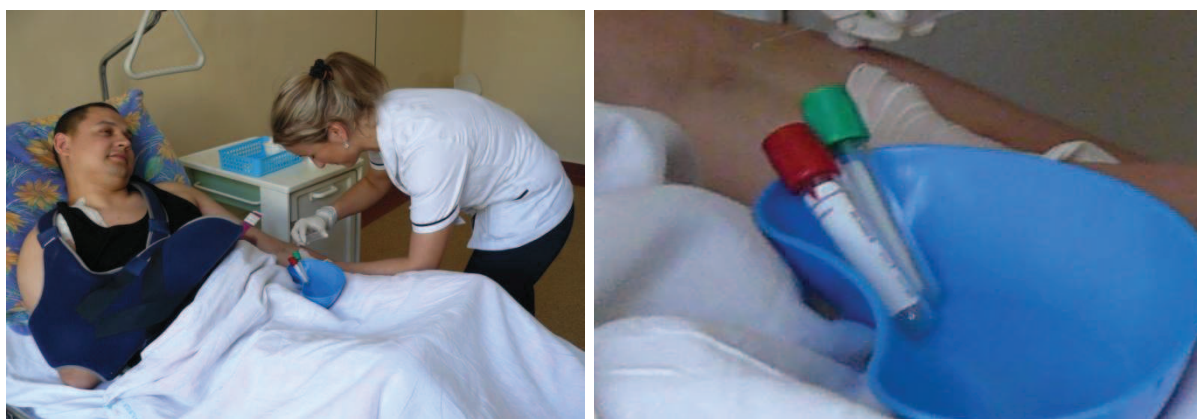
Do analizy włączono wyniki rutynowo stosowanych badań morfologii krwi obwodowej, OB i CRP wykonywanych w poszczególnych dobach przez Centralne Laboratorium Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku za zgodą kierownika laboratorium dr med. Krzysztofa Lewandowskiego.



Fot. 1. Wyrażenie zgody na udział w badaniu przed pobraniem pierwszej próbki krwi

2.2. Badania własne

Od pacjentów pobrano po dwie próbki krwi – ok. 1ml krwi do probówki zawierającej heparynę oraz 1 ml na skrzep w I, II oraz V dobie po urazie. W grupie badanej (Gb) u 40 chorych pobrano badania we wszystkich trzech punktach pomiarowych, u 10 nie było możliwe pobranie i/lub przeprowadzenia badania w I dobie po urazie ze względu na brak możliwości uzyskania zgody od chorego nieprzytomnego, czy uzyskania zgody sądowej lub brak możliwości skorzystania z laboratorium w ciągu 24 h od pobrania próbki. W grupie kontrolnej (G1) pobrano próbki jednorazowo. Natomiast w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) również w I, II i V dobie po urazie.



Fot. 2. Pobranie materiału do badań funkcji fagocytów i poziomu cytokin

2.3. Analiza poziomu cytokin

Badania poziomu wybranych cytokin pro- i przeciwzapalnych dokonano za pomocą fluorescencyjnej cytometrii przepływowej przy użyciu zestawu Human Inflammatory Cytokines Kit firmy BD Biosciences oraz cytometru przepływowego firmy FACScan Becton and Dickinson USA.

W metodzie tej wykorzystuje się reakcję immunologiczną „antygen-przeciwciało” celem identyfikacji poszczególnych substancji w surowicy krwi. Składniki o różnej intensywności fluorescencji są pokryte odpowiednimi przeciwciałami dla poszczególnych

cytokin – IL8, IL1 β , IL6, IL10, TNF i IL12p70. Po odpowiednim przygotowaniu i inkubacji mieszaniny substancji fluorescencyjnych z surowicą badaną następuje reakcja immunologiczna prowadząca do połączenia się cząsteczek poszczególnych cytokin z przeciwciałami na koralikach substancji fluorescencyjnej i formowania się tzw. kompleksów typu „sandwich” o różnej intensywności fluorescencji. Podczas analizy przy użyciu cytometru przepływowego oraz oprogramowania FCAP Array Software mierzone jest nasilenie fluorescencji w poszczególnych zakresach zależnych od rodzaju cytokiny, a wyniki przedstawiane są w sposób graficzny i w tabeli, co pozwala na kontrolę poprawności badania oraz uzyskania danych ilościowych dotyczących poszczególnych cytokin. W metodzie tej potrzebne jest ok. 6 razy mniej krwi do analizy niż przy zastosowaniu standardowej metody ELISA i pozwala na kilkukrotnie szybsze uzyskanie wyników. Jednakże poziomy IL1 β , TNF i IL12p70 mogą być niższe niż przy analizie za pomocą metody ELISA. Z uwagi na to, że w pracy nie wykorzystywano innych metod analizy i wyniki porównywano pomiędzy poszczególnymi grupami, ograniczenie to nie ma wpływu na jakość badania ani na uzyskane wyniki.

Krew pobrana od pacjentów i ochotników w dniu pobrania była odwirowywana i uzyskana w ten sposób surowica była mrożona w temperaturze – 22°C. Po uzyskaniu odpowiedniej dla zestawu ilości próbek (90 na jedną analizę) odmrażano je w temperaturze pokojowej i przeprowadzano badanie. Ważne jest przygotowanie listy próbek i odpowiednie ich oznakowanie, by później łatwo zidentyfikować wyniki. Przed każdą analizą przygotowuje się krzywą standardową – rozcieńczenie standardu cytokin 1:2, 1:4, 1:8, 1:36, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256 i ślepa próba, aby wykluczyć wpływ czynników zewnętrznych oraz ewentualnych różnic w zakresie zestawów dla jakości badania. Po jej przygotowaniu przenosi się po 50 μ l badanej surowicy do probówek cytometrycznych i 50 μ l mieszaniny substancji fluorescencyjnych i inkubuje przez 1,5h w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem. Następnie po wypłukaniu i odwirowaniu dodaje się mieszaninę przeciwciał przeciw poszczególnym cytokinom, które łącząc się z cytokinami opłaszczają koraliki substancji fluorescencyjnej w trakcie kolejnej 1,5h inkubacji w temperaturze pokojowej. Po tym czasie i ostatecznym płukaniu można przystąpić do analizy cytometrycznej. Najpierw badaniu poddaje się probówki ze standardowymi rozcieńczeniami dające w efekcie krzywą standardową dla dalszych pomiarów. Następnie kolejno, analizie poddawane są poszczególne próbki. Po przetworzeniu danych przez program komputerowy otrzymuje się gotowe wyniki

w formie tabeli oraz wykresy dla każdego badania, które w trakcie analizy można uwidocznic na ekranie komputera, co umożliwia wykrycie ew. błędu [54].



Fot.3. Przygotowanie surowicy do badania poziomów cytokin

2.4. Badanie aktywności fagocytozy

Do analizy aktywności fagocytarnej komórek żernych (granulocytów obojętnochłonnych i monocytów) wykorzystano zestaw Phagotest firmy Glycotope oraz cytometr przepływowy firmy FACScan Becton and Dickinson USA.

Badanie to pozwala na ocenę ilościową aktywności komórek żernych w krwi pełnej chorego w reakcji na kontakt z bakteriami, poprzez ocenę procentowej ilości komórek fagocytydujących oraz ich indywidualnej aktywności odpowiadającej ilości sfagocytowanych bakterii przez jedną komórkę żerną. Badanie powinno być przeprowadzone w ciągu doby od pobrania próbki, którą w tym czasie należy przechowywać w temperaturze pokojowej.

Istotą badania jest inkubacja krwi chorego z oznaczonymi fluorescencyjnie bakteriami *E.coli* w temperaturze ciała (37°C), następnie gwałtowna terminacja procesu poprzez schłodzenie oraz analiza liczby „świeących” komórek i intensywności fluorescencji. Ograniczeniem badania jest konieczność wykonania go w ciągu 24h od pobrania próbki, duża

zależność od temperatury. Kilka badań zostało odrzuconych, gdy temperatura na zewnątrz wynosiła 30°C, a w laboratorium nie było wówczas klimatyzacji, ponieważ wyniki były zawyżone. Brak jest norm dla osób zdrowych – producent przeprowadził próby jedynie na kilku osobach, jednak w przypadku bieżącego badania zastosowano „własną” grupę kontrolną 20 - osobową.

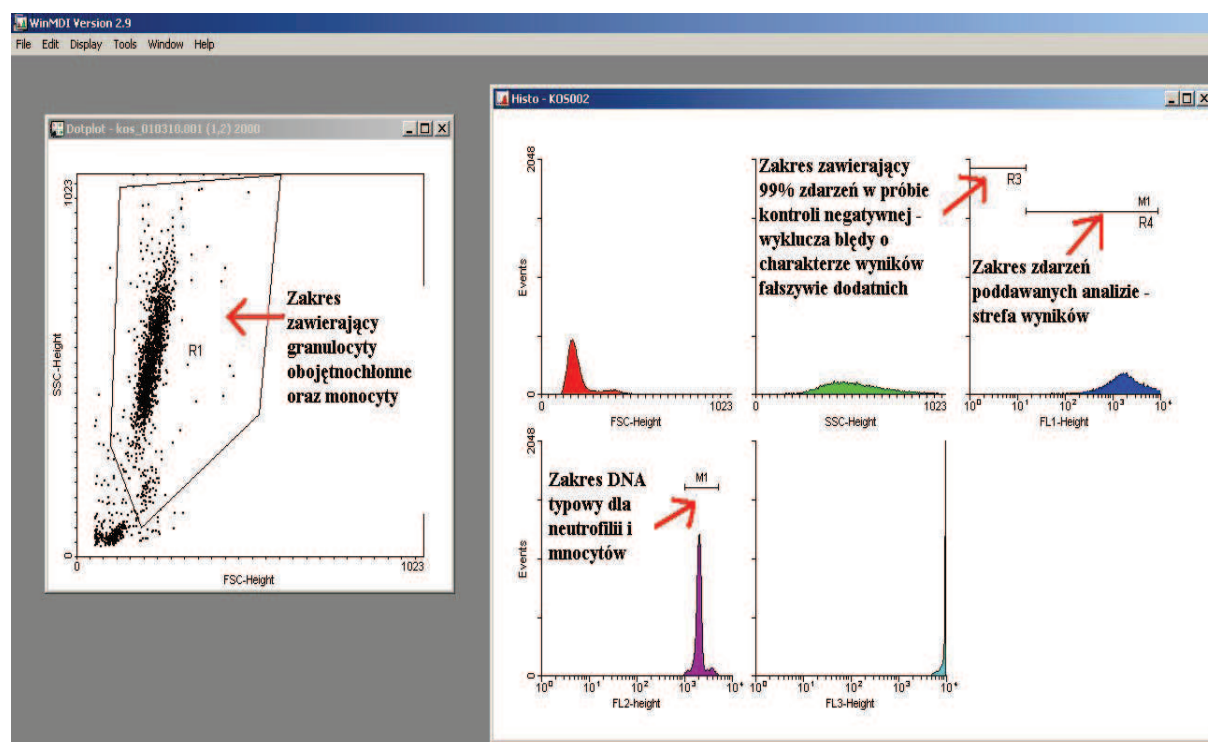


Fot. 4. Pierwszy etap „fagotestu” i „bursttestu” oraz inkubacja w temperaturze 37°C

Objętość 100µl heparynizowanej krwi pobranej od chorego umieszcza się w probówce cytometrycznej i schładza w temperaturze 0°C przez 10 min; procesowi schładzania poddajemy również roztwór znakowanych fluorescencyjnie bakterii *E.coli*. Po tym czasie do krwi dodajemy 20µl bakterii. Przygotowujemy jednocześnie próbkę kontrolną zawierającą również 100 µl krwi chorego i 20 µl bakterii. Po wymieszaniu próbkę badaną umieszczamy w łaźni wodnej o temperaturze 37°C, a próbkę kontrolną pozostawiamy na lodzie (w temp. 0°C). Po 10 minutach inkubacji próbkę przekładamy na лёd i gwałtownie schładzamy używając roztworu chłodzącego co zatrzymuje proces fagocytozy. Po dwukrotnym wypłukaniu i odwirowaniu w celu usunięcia resztek niesfagocytowanych bakterii wykonuje się lizę erytrocytów przy użyciu roztworu lizującego, z którym inkubujemy próbki przez okres 20 min. w temperaturze pokojowej. Po odwirowaniu i wypłukaniu uzyskujemy próbkę wolną od krwinek czerwonych. Następnie dodajemy roztwór stabilizujący DNA, co pozwala na odróżnienie komórek badanych od resztek sklejonych bakterii na podstawie wielkości

cząstek DNA. Proces ten przeprowadza się w temp. 0°C przez okres 10 min. Następnie możemy przystąpić do analizy cytometrycznej. Wynikiem są graficznie przedstawione intensywności fluorescencji w zależności od będących przedmiotem zainteresowania danych.

Kolejnym etapem jest analiza danych przy pomocy programu WIN-MDI. W pierwszym etapie uzyskujemy wykres zdarzeń w zależności od wielkości i ziarnistości komórek, co umożliwia zaznaczenie grupy komórek badanych – granulocytów obojętnochłonnych i monocytów. Kolejnym etapem jest uzyskanie danych w postaci histogramów. Tu oznaczamy zakres danych o pożądanym zakresie DNA, to jest 10^3 - 10^4 po to, aby wyeliminować pozostałości bakterii. Na bazie wykresu próby kontrolnej ustalamy zakres analizy – tak by w zaznaczonym obszarze znajdowało się nie więcej niż 1% komórek aktywnych. Przechodzimy do próby badanej i odczytujemy wyniki. Pierwszą interesującą daną jest procent komórek fagocytyzujących, a drugą średnia fluorescencja (G mean) odpowiadająca liczbie sfagocytowanych bakterii na komórkę żerną. W swojej analizie wprowadziłam trzeci parametr, tj. iloczyn % komórek aktywnych i średniej fluorescencji, który odpowiada realnej aktywności fagocytozy u danego chorego [45, 55, 56, 57, 58].



Fot. 5. Analiza cytometryczna aktywności fagocytozy u chorego M.J. z MOC

2.5. Ocena „wybuchu tlenowego”

Do analizy „wybuchu tlenowego” jako mechanizmu niszczenia drobnoustrojów po sfagocytowaniu przez komórki żerne użyto zestawu Phagoburst firmy Glycotope oraz cytometru przepływowego.

Badanie to pozwala na ilościową ocenę aktywności „wybuchu tlenowego” komórek żernych poprzez ocenę procentowej liczby komórek aktywnych oraz ich indywidualnej aktywności odpowiadającej ilości utlenionego substratu o właściwościach fluorescencyjnych przez jedną komórkę żerną w reakcji na kontakt z bakteriami oraz na stymulatory chemiczne: słaby – FMLP (N-formylometionylleucynylofenyloalanina – czynnik chemotaktyczny) oraz silny - PMA (octan mirystynianu forbolu – aktywator kinazy białkowej C). Substratem utlenianym jest dihydrorodamina (DHR), która po utlenieniu przekształca się w fluorescencyjną rodaminę. Badanie powinno być przeprowadzone w ciągu doby od pobrania próbki, którą w tym czasie należy przechowywać w temperaturze pokojowej.

Początkowa faza badania odbywa się analogicznie do badania fagocytozy. Po 100µl heparynizowanej krwi pobranej od chorego umieszcza się w 4 odpowiednio opisanych probówkach cytometrycznych i schładza w temperaturze 0°C przez 10 min. Procesowi schładzania poddaje się również zawiesinę bakterii *E.coli*, FMLP i PMA. Po tym czasie do krwi dodaje się kolejno 20µl roztworu płuczącego do próby negatywnej, 20µl zawiesiny bakterii do drugiej probówki, 20µl FMLP i 20µl PMA do kolejnych. Po wymieszaniu, próbki umieszcza się w łaźni wodnej o temperaturze 37°C. Po 10 minutach inkubacji do próbek dodaje się po 20µl roztworu dihydrorodaminy i ponownie przenosi je do łaźni wodnej na kolejne 10 min. Po tym czasie wykonuje się lizę erytrocytów przy użyciu roztworu lizującego, z którym inkubuje się próbki przez 20 min. w temperaturze pokojowej. Po odwirowaniu i wypłukaniu uzyskuje się próbki wolne od krwinek czerwonych. Następnie dodajemy roztwór stabilizujący DNA, co pozwoli na odróżnienie komórek badanych od resztek sklejonych bakterii na podstawie wielkości cząsteczek DNA. Proces ten przeprowadza się w temp. 0°C przez 10 min. Następnie można przystąpić do analizy cytometrycznej. Wynikiem są graficznie przedstawione intensywności fluorescencji w zależności od interesujących nas danych.

Analogicznie, jak przy badaniu fagocytozy, można użyć programu WIN-MDI, w którym w pierwszej kolejności ustawia się zakres komórek na neutrofile i monocyty. Następnie na histogramach oznacza obszar danych o pożądanym zakresie DNA,

by wyeliminować pozostałości bakterii. Na bazie wykresu próby kontrolnej ustala się zakres analizy i przechodzi do kolejnych próbek badanych. Odczytujemy procent komórek, w których nastąpiła reakcja utleniania DHR, czyli wystąpił „wybuch tlenowy” oraz średnią fluorescencję (G mean) odpowiadającą ilości rodaminy na komórkę żerną, czyli aktywności reakcji „wybuchu tlenowego”. Analogicznie do oceny fagocytozy analizowano iloczyn odsetka komórek aktywnych i średniej fluorescencji, który odpowiada realnej aktywności „wybuchu tlenowego” u danego chorego [59-61].



Fot. 6. Liza erytrocytów w temperaturze pokojowej oraz analiza cytometryczna badanych próbek

2.6. Analiza wyników

Uzyskane dane opracowano statystycznie w odniesieniu do ogólnej populacji pacjentów, ciężkości obrażeń (skale AIS – Abbreviated Injury Scale - skrócona skala ciężkości obrażeń, ISS – Injury Severity Score - wskaźnik ciężkości obrażeń, RTS – Revised Trauma Score - zmodyfikowana skala ciężkości obrażeń, GCS - Glasgow Coma Scale - skala śpiączki Glasgow) oraz wieku pacjentów. Wyniki porównano z grupą kontrolną osobników bez urazu jak również z pojedynczymi obrażeniami ciała.

Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem programu STATISTICA 10.0 (licencja GUMed). W pierwszym etapie procedury oceniano badane zmienne pod kątem rozkładu danych i typu rozkładu wartości, używając testu Kołmogorova-Smirnova i Shapiro-Wilka.

W celu porównania wartości cech ilościowych pomiędzy analizowanymi grupami zastosowano analizę wariancji ANOVA wraz z analizą post-hoc, dla porównania różnic zmiennych ilościowych dla więcej niż dwóch grup i test U-Manna Whitneya dla porównania różnic zmiennych ilościowych pomiędzy dwoma grupami

Oceny zależności pomiędzy dwiema zmiennymi ilościowymi dokonano przy użyciu analizy korelacji Pearsona i przedstawiano ją za pomocą współczynnika korelacji.

W celu określenia punktu odcięcia dla CRP w II dobie po urazie i IL6 w I dobie po urazie w odróżnianiu grupy chorych z powikłaniami infekcyjnymi i bez zakażeń przeprowadzono analizę ROC, wykorzystując zestaw medyczny programu STATISTICA – wyznaczano wartości czułości, swoistości, wartość punktu odcięcia oceniano na podstawie czułości i swoistości oraz krzywej ROC.

Zmienne ilościowe opisywano za pomocą wartości mediany oraz zakresu górnego i dolnego kwartyla. Wyniki analizy przedstawiono na wykresach „ramka-wąsy” za pomocą mediany wraz z zakresem górnego i dolnego kwartyla oraz minimum i maksimum wyników. Wartość statystyki $p < 0,05$ przyjęto za istotność statystyczną.

Czułość definiowano jako stosunek wyników prawdziwie dodatnich do sumy prawdziwie dodatnich i fałszywie ujemnych wyrażony w %. Natomiast specyficzność jako stosunek wyników prawdziwie ujemnych do sumy prawdziwie ujemnych i fałszywie dodatnich wyrażony w %.

IV WYNIKI

1. Podstawowe parametry reakcji zapalnej

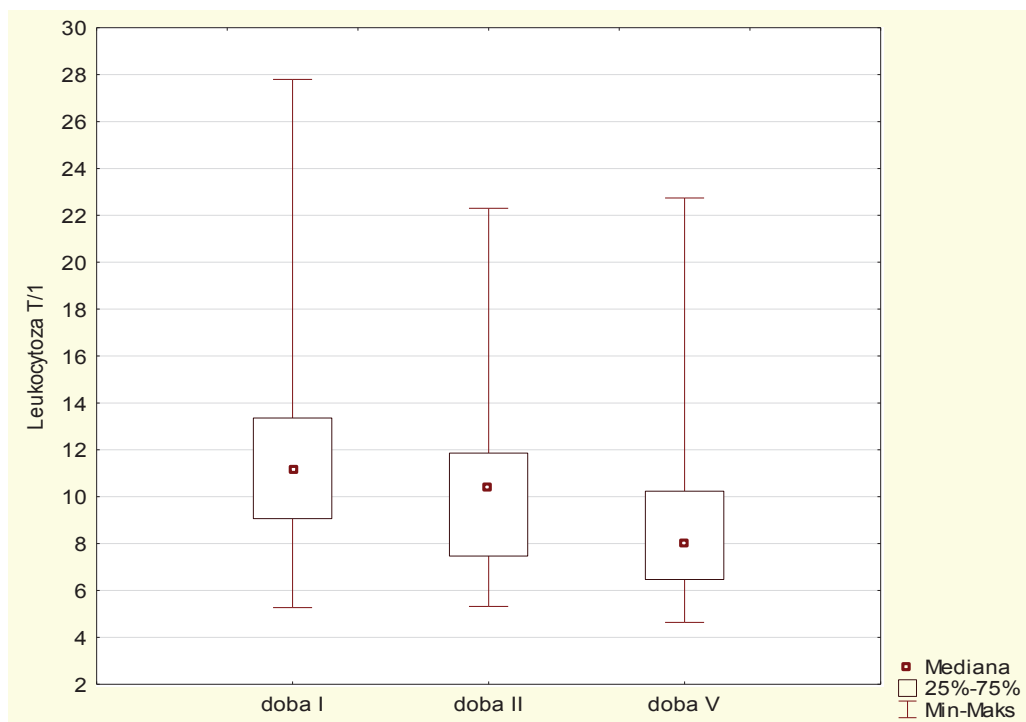
1.1. Grupa chorych z mnogimi obrażeniami ciała (MOC)

Liczbę leukocytów w grupie badanej (Gb) w poszczególnych dobach od urazów przedstawiono tabeli 4 poniżej:

Tabela 4. Liczba leukocytów w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z mnogimi obrażeniami ciała (MOC) (Gb) T/ml

Doba od urazu Parametr	I	II	V
Minimum	5,27	5,32	4,64
Maksimum	27,8	22,3	22,74
Średnia	12,22	10,34	9,03
Odchylenie standardowe	4,42	3,44	3,63
Mediana	11,12	10,45	8,02

Wykazano statystycznie znamienne obniżające się w czasie wartości liczby leukocytów w I, II i V dobie po urazie z $p < 0,05$ (wykres 1).



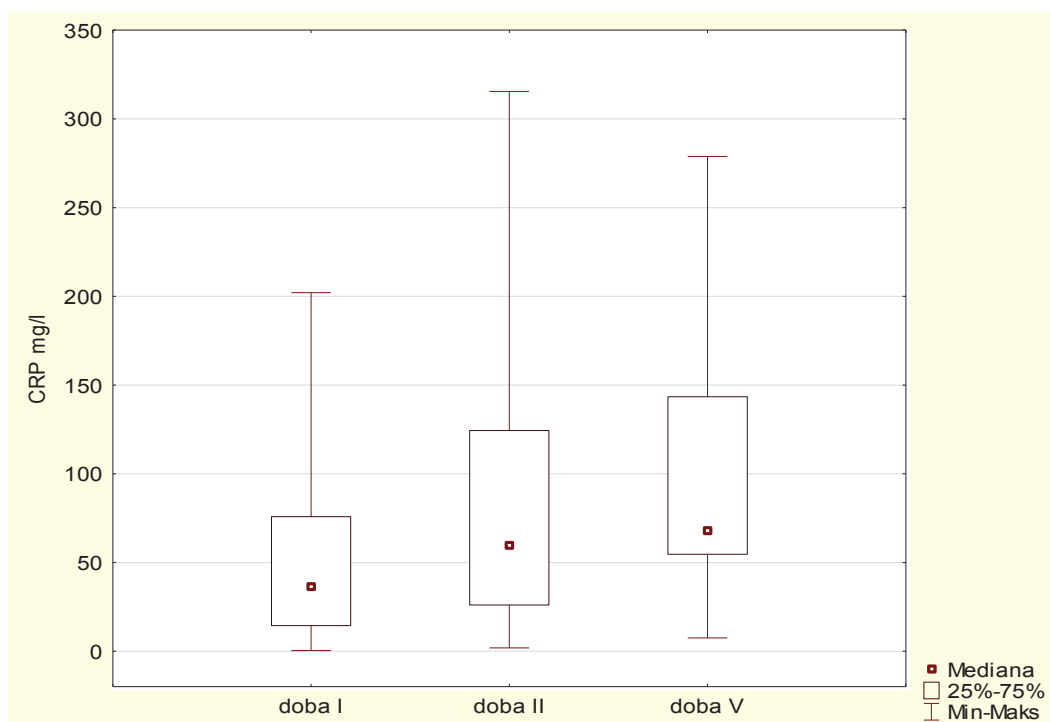
Wykres 1. Liczba leukocytów w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb)
T/ml

W tabeli 5 przedstawiono wartości białka C-reaktywnego (CRP) w poszczególnych dobach w grupie badanej (Gb).

Tabela 5. Wartość CRP w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb) mg/l

Doba od urazu	I	II	V
Parametr			
Minimum	0,4	7,46	1,86
Maksimum	202,1	278,8	315,5
Średnia	53,35	110,87	104,71
Odchylenie standardowe	51,32	71,41	93,07
Mediana	36,5	68,2	59,15

Wykazano statystycznie znaczne niższe wartości CRP w I dobie od urazu w porównaniu z poziomem CRP w II i V dobie. Nie stwierdzono różnic statystycznych w wartości CRP w II i V dobie (wykres 2).



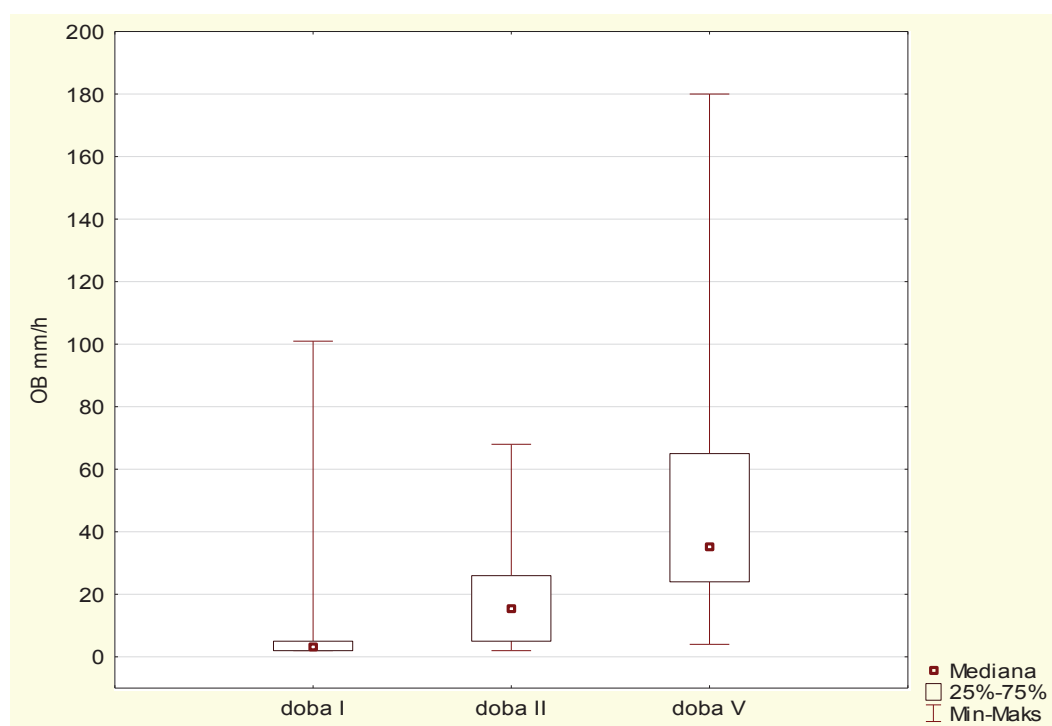
Wykres 2. Wartość CRP w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb) mg/l

Wartości OB w Gb w poszczególnych dobach po urazie przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Wartość OB w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb) mm/h

Doba od urazu \ Parametr	I	II	V
Minimum	2	2	4
Maksimum	35	68	180
Średnia	9,29	18,19	48,3
Odchylenie standardowe	17,6	16,7	33,54
Mediana	3	15,5	35,5

Wykazano statystycznie znamienne wzrost wartości OB w kolejnych dobach po urazie (wykres 3).



Wykres 3. Wartość OB w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb) mm/h

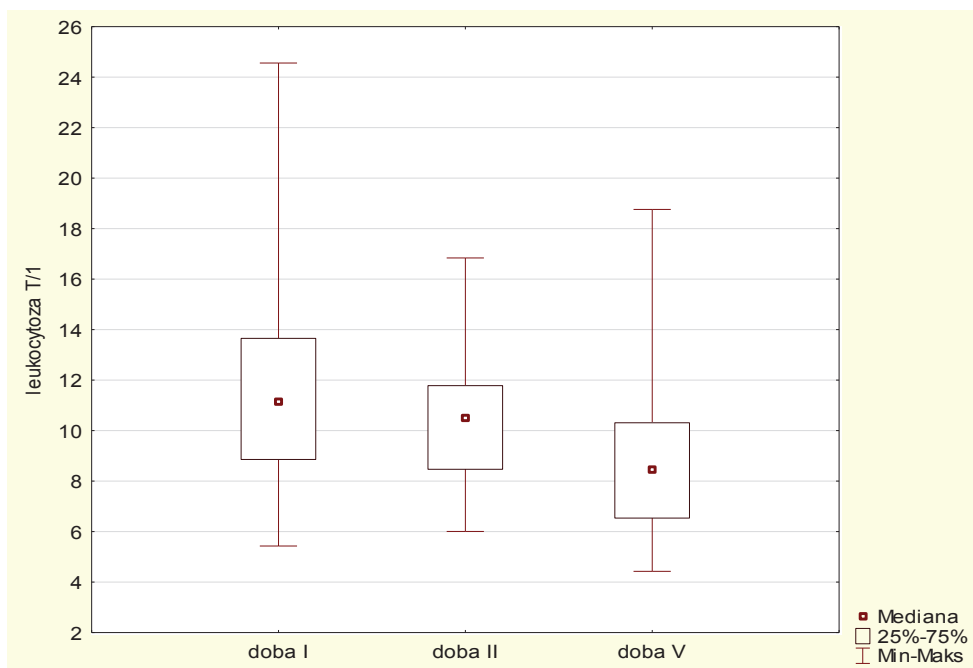
1.2. Grupa kontrolna – chorzy z pojedynczymi obrażeniami ciała

Liczbę leukocytów w grupie kontrolnej (G2) w poszczególnych dobach od urazów przedstawiono tabeli 7 poniżej:

Tabela 7. Liczba leukocytów w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) T/ml

Doba od urazu Parametr	I	II	V
Minimum	5,43	6,01	4,43
Maksimum	24,56	16,84	18,76
Średnia	11,85	10,59	9,13
Odchylenie standardowe	4,15	3,16	3,68
Mediana	11,13	10,48	8,43

Podobnie, jak w grupie chorych z MOC, wykazano statystycznie znamieny spadek poziomu leukocytów w poszczególnych dobach przy $p < 0,05$ (wykres 4) przy $p < 0,05$.



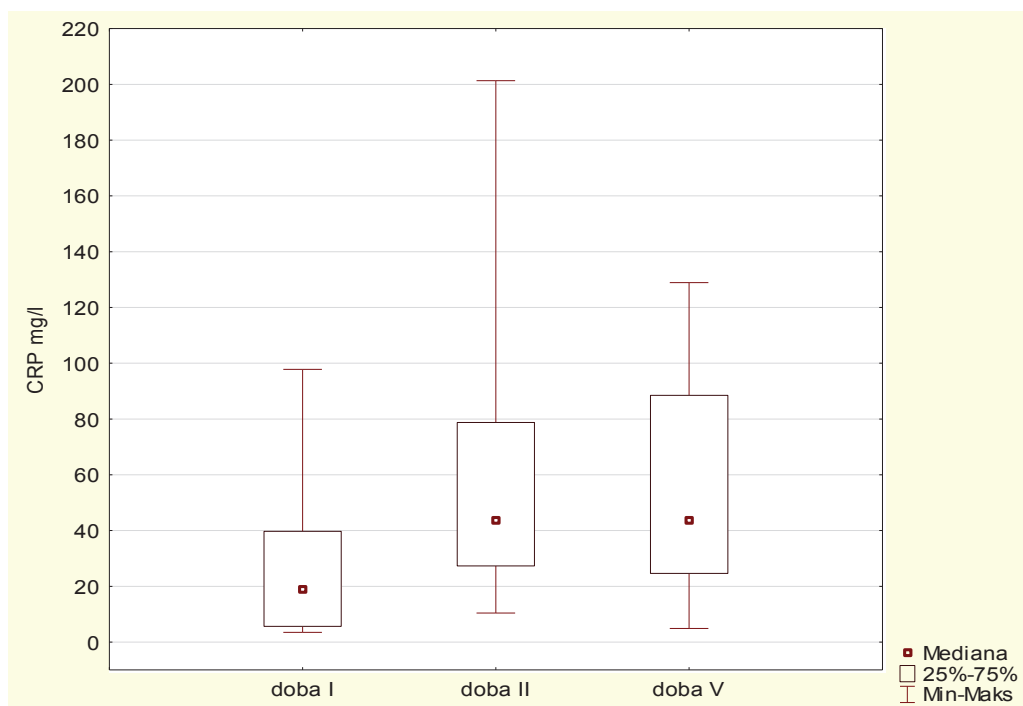
Wykres 4. Liczba leukocytów w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) T/ml

W tabeli 8 przedstawiono wartości CRP w poszczególnych dobach w grupie kontrolnej (G2).

Tabela 8. Wartość CRP w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) mg/l

Doba od urazu \ Parametr	I	II	V
Minimum	3,5	10,4	4,9
Maksimum	97,8	201,34	128,91
Średnia	27,09	64,35	57,30
Odchylenie standardowe	26,82	56,14	39,16
Mediana	19,35	44,16	43,43

Analogicznie, jak w przypadku grupy chorych z MOC wykazano statystycznie wyższe CRP w II i V dobie po urazie w stosunku do jego poziomu w I dobie. Nie stwierdzono różnic statystycznych w wartości CRP w II i V dobie (wykres 5).



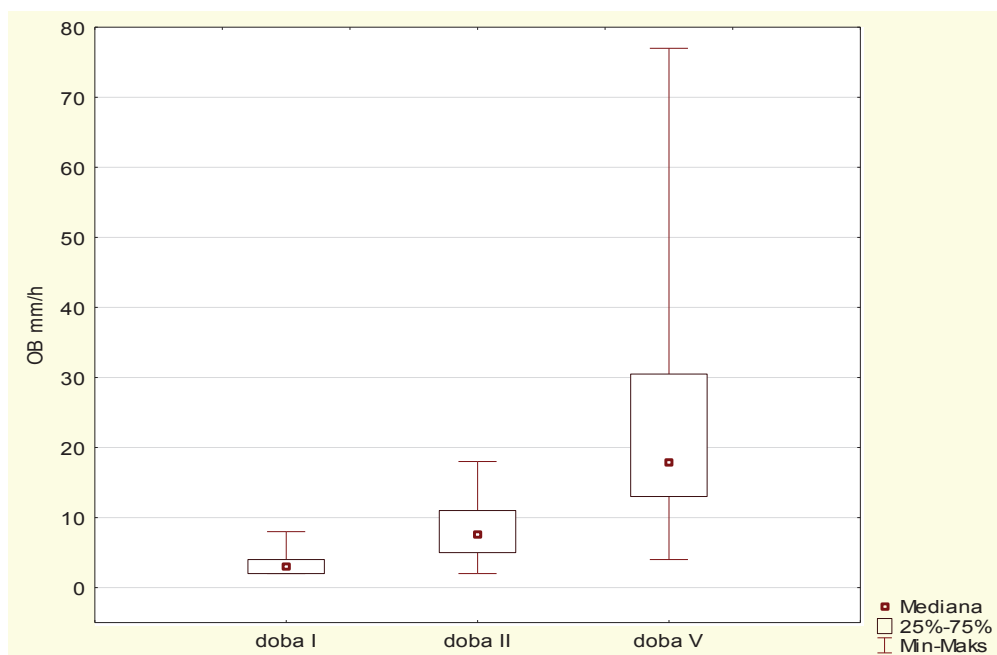
Wykres 5. Wartość CRP w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) mg/l

Wartości OB w G2 w poszczególnych dobach po urazie przedstawiono w tabeli 9.

Tabela 9. Wartość OB w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) mm/h

Doba od urazu \ Parametr	I	II	V
Minimum	2	2	4
Maksimum	8	18	87
Średnia	3,55	8,25	23,35
Odchylenie standardowe	1,73	4,68	17,52
Mediana	3	7,5	18

Podobnie, jak w grupie badanej (Gb) wykazano statystycznie znamienne rosnące wartości OB w poszczególnych dobach (wykres 6).

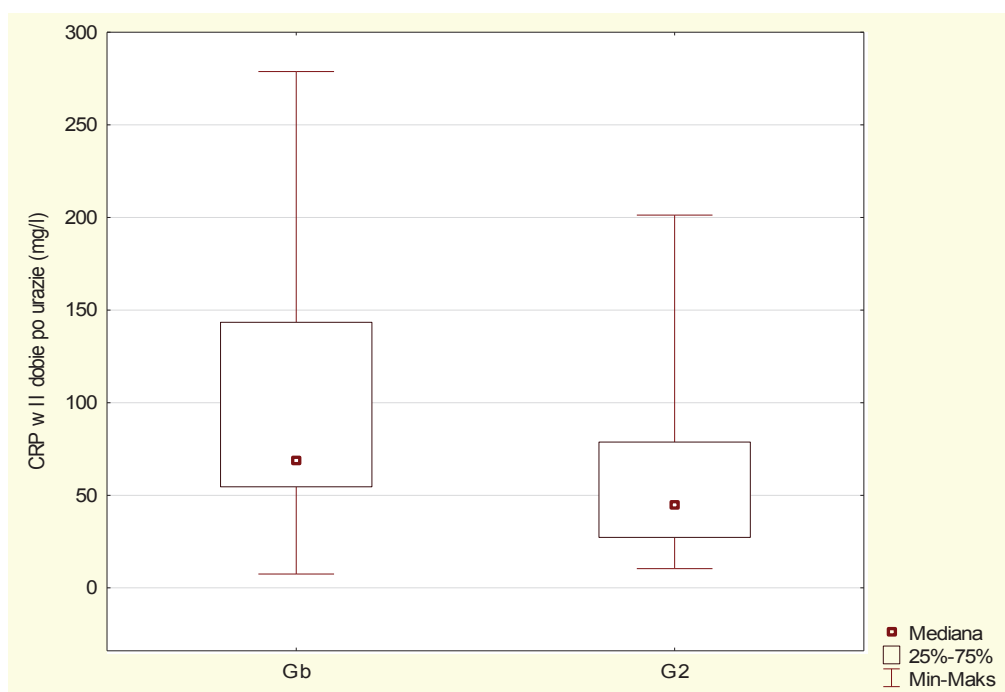


Wykres 6. Wartość OB w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) mm/h

1.3. Porównanie pomiędzy grupami chorych z mnogimi (Gb) i pojedynczymi (G2) obrażeniami ciała.

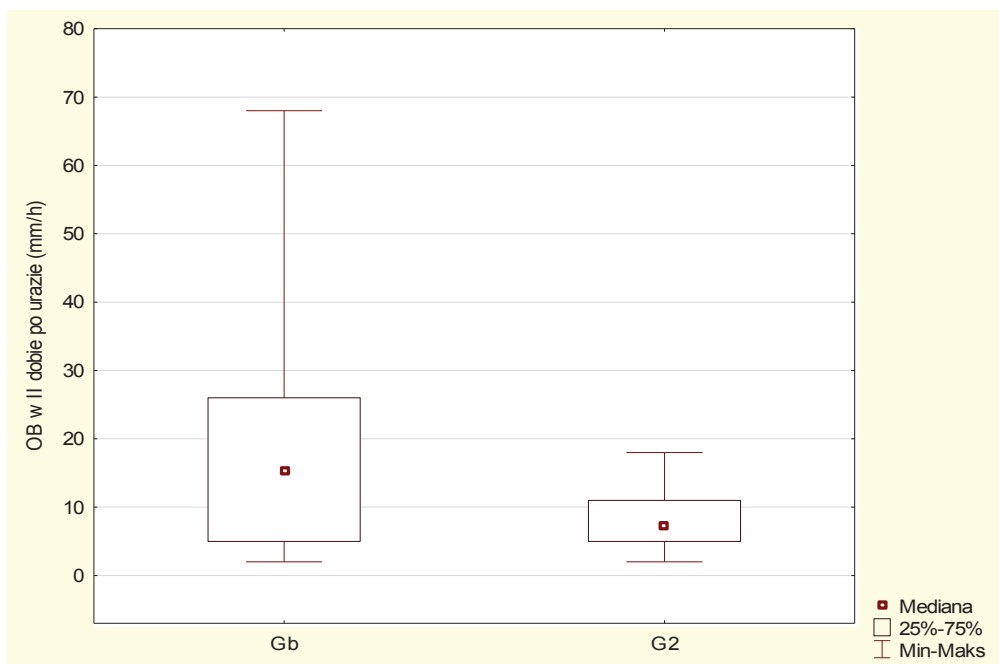
Nie wykazano statystycznie znamiennych różnic pomiędzy liczbą leukocytów w poszczególnych dobach w grupie badanej (Gb) i grupie kontrolnej (G2).

Wykazano statystycznie znamienne wyższy poziom CRP w II dobie od urazu w grupie chorych z MOC w porównaniu do grupy kontrolnej chorych z pojedynczymi obrażeniami przy $p < 0,05$ (wykres 7). Nie wykazano różnic w wartości CRP w pozostałych dobach w w/w grupach.

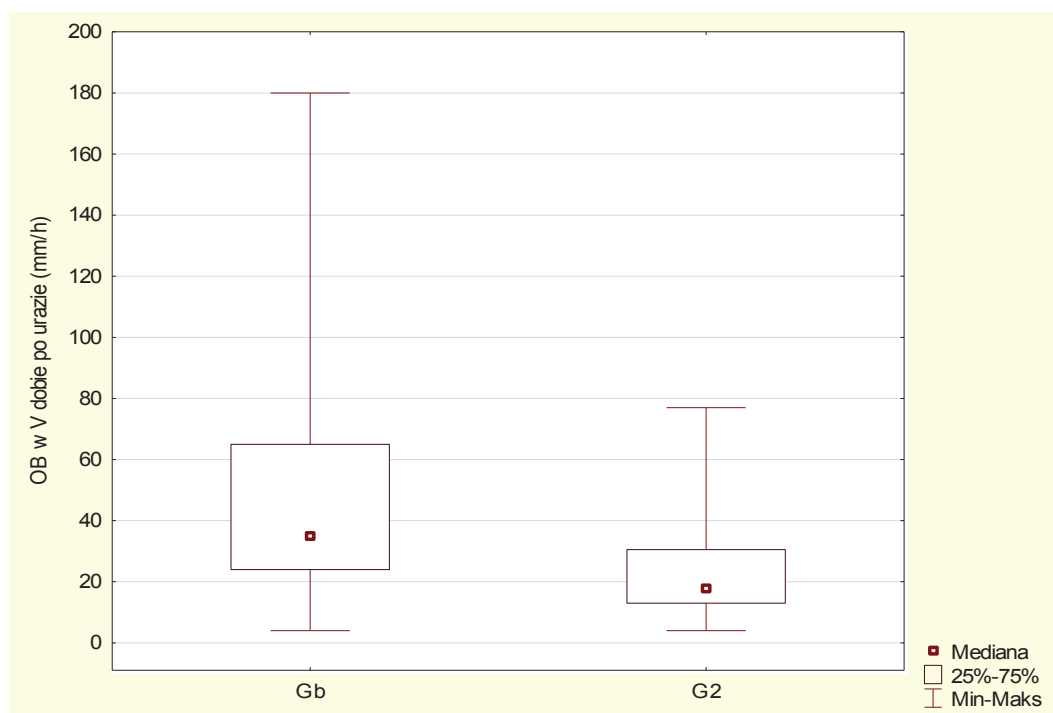


Wykres 7. Porównanie wartości CRP w II dobie po urazie w grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) i pojedynczymi (G2)

Wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości OB w grupie badanej (Gb) w porównaniu do grupy kontrolnej (G2) w II i V dobie od urazu (wykresy 8 i 9). Nie wykazano różnic pomiędzy wartościami OB w tych grupach w I dobie.



Wykres 8. Porównanie wartości OB w II dobie po urazie w grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) i pojedynczymi (G2)



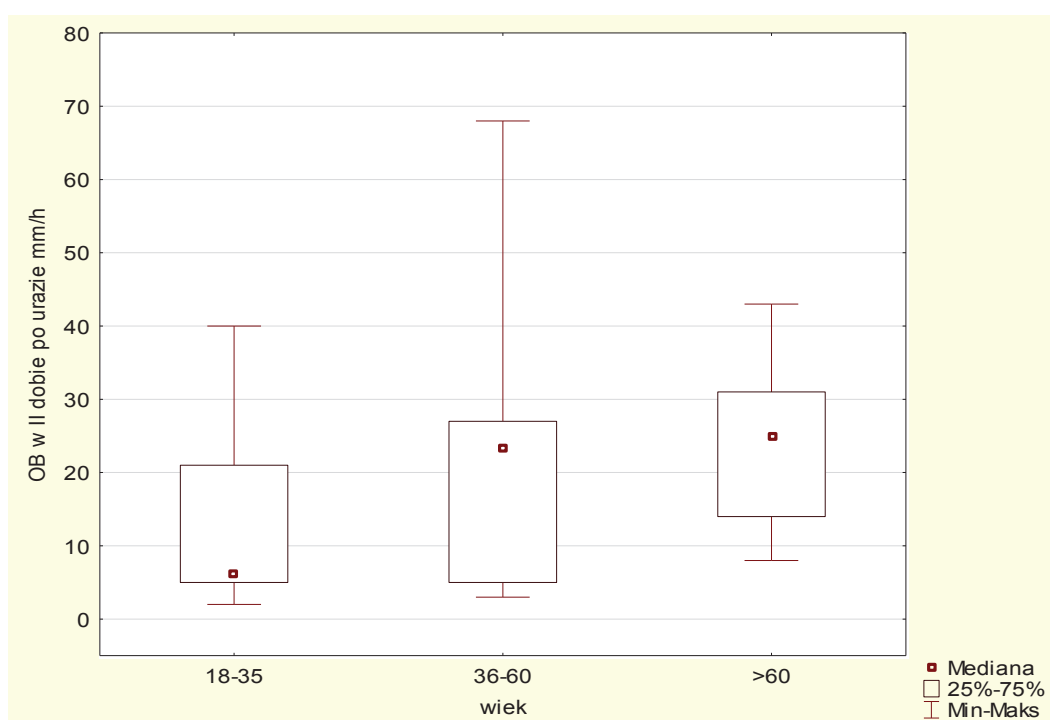
Wykres 9. Porównanie wartości OB w V dobie po urazie w grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) i pojedynczymi (G2)

1.4. Ocena zależności podstawowych parametrów stanu zapalnego od płci i wieku pacjentów.

W przeprowadzonym badaniu nie wykazano różnic statystycznie znamiennej w zależności od płci w zakresie wartości leukocytozy, CRP i OB w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z mnogimi obrażeniami ciała (Gb).

Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w zależności od wieku w zakresie wartości leukocytozy i CRP w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z mnogimi obrażeniami ciała (Gb).

Wykazano statystycznie znamienne różnice pomiędzy w wartości OB w drugiej dobie od urazu w grupie badanej (Gb) w pomiędzy grupami wiekowymi 18-35, 36-60, >60 lat – wzrastające wraz z wiekiem chorych (wykres 10). Nie wykazano różnic w wartości OB w dobie I i V w zależności od wieku.

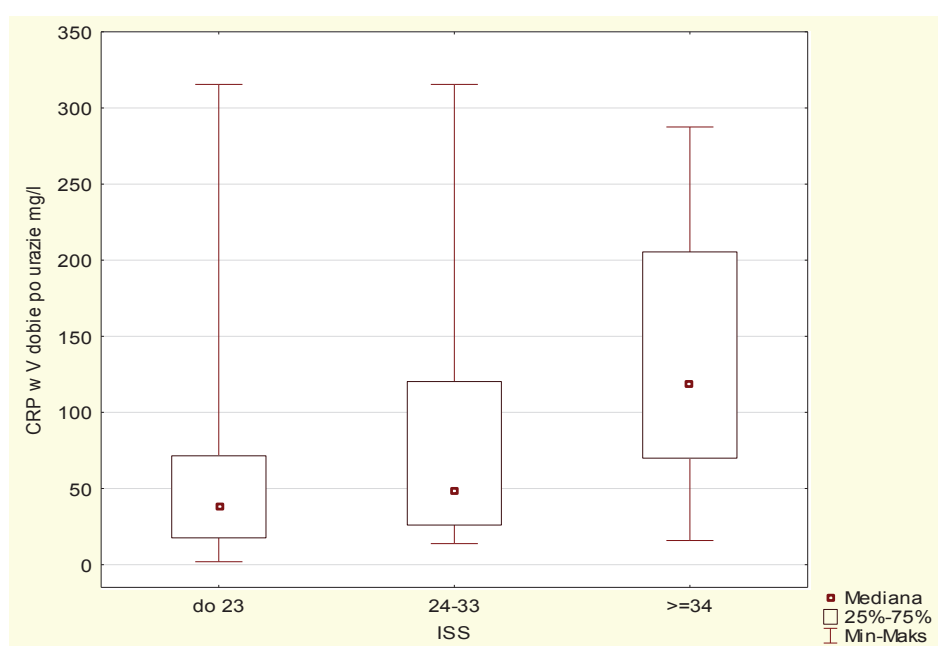


Wykres 10. Wartość OB w drugiej dobie po urazie w grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) w poszczególnych grupach wiekowych

1.5. Ocena zależności podstawowych parametrów reakcji zapalnej od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS

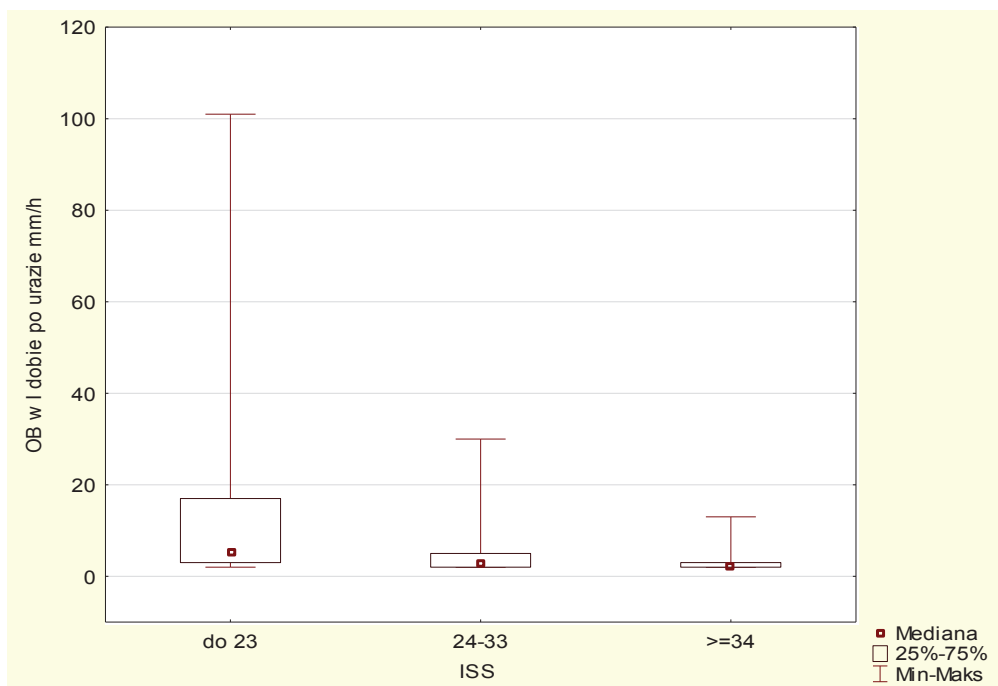
W celu zobrazowania różnic statystycznych grupę chorych z MOC (Gb) podzielono na podgrupy w zależności od wartości ISS – $ISS \leq 23$, $24 < ISS < 34$ oraz $ISS \geq 34$. Nie wykazano statystycznie znamiennych różnic w zakresie poziomu leukocytów w poszczególnych dobach w grupie badanej w zależności od wskaźnika ISS.

Wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości CRP w grupie chorych z mnogimi obrażeniami ciała w V dobie od urazu pomiędzy w grupie z $ISS \geq 34$ w porównaniu do grupy z $ISS \leq 23$ (wykres 11). Nie wykazano zależności statystycznej wartości CRP w dobie I i II od wartości ISS.



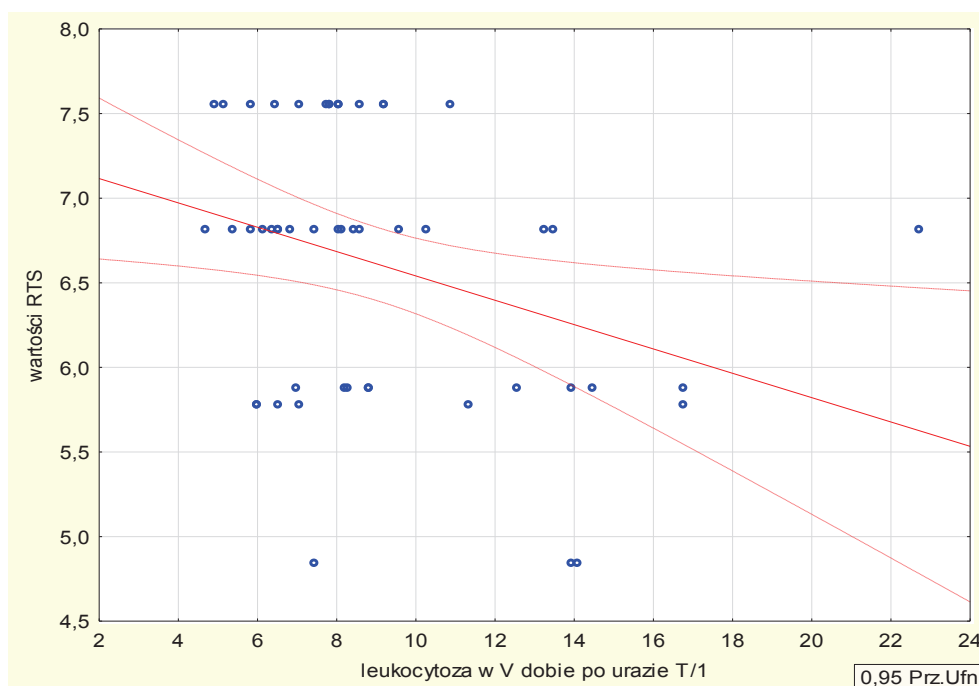
Wykres 11. Poziom CRP w V dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości ISS

Wykazano statystycznie znamienne różnice w grupie chorych z mnogimi obrażeniami ciała w zakresie OB w I dobie od urazu pomiędzy grupami $ISS \leq 23$, $24 < ISS < 34$ oraz $ISS \geq 34$ – im cięższy uraz tym niższe wartości OB (wykres 12). Nie wykazano korelacji wartości OB w dobie II i V od wartości ISS.



Wykres 12. Poziom OB w I dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości wskaźnika ISS

Wykazano słabą ujemną korelację pomiędzy wartością RTS u chorych z obrażeniami mnogimi (Gb), a wartością leukocytozy w V dobie po urazie (wykres 13). Nie wykazano zależności w/w parametrów w I i II dobie od urazu.



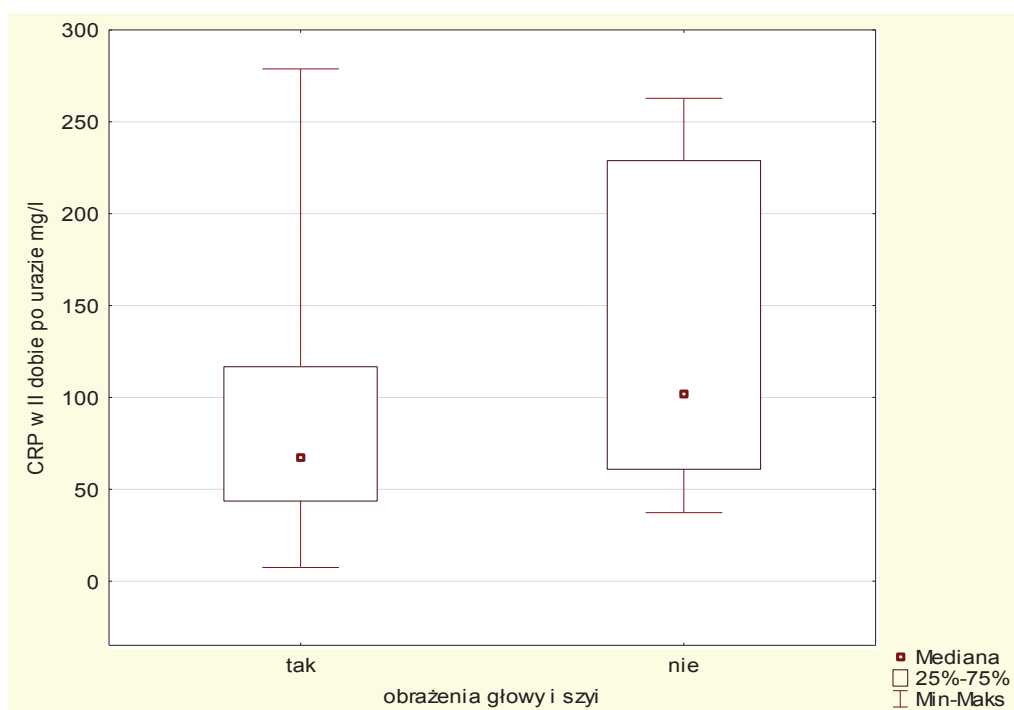
Wykres 13. Wykres rozrzutu liczby leukocytów w V dobie po urazie w grupie chorych z MOC (Gb) względem wartości w skali RTS

Nie stwierdzono zależności pomiędzy wartością RTS, a poziomem CRP i OB, w poszczególnych dobach od urazu w grupie badanej (Gb).

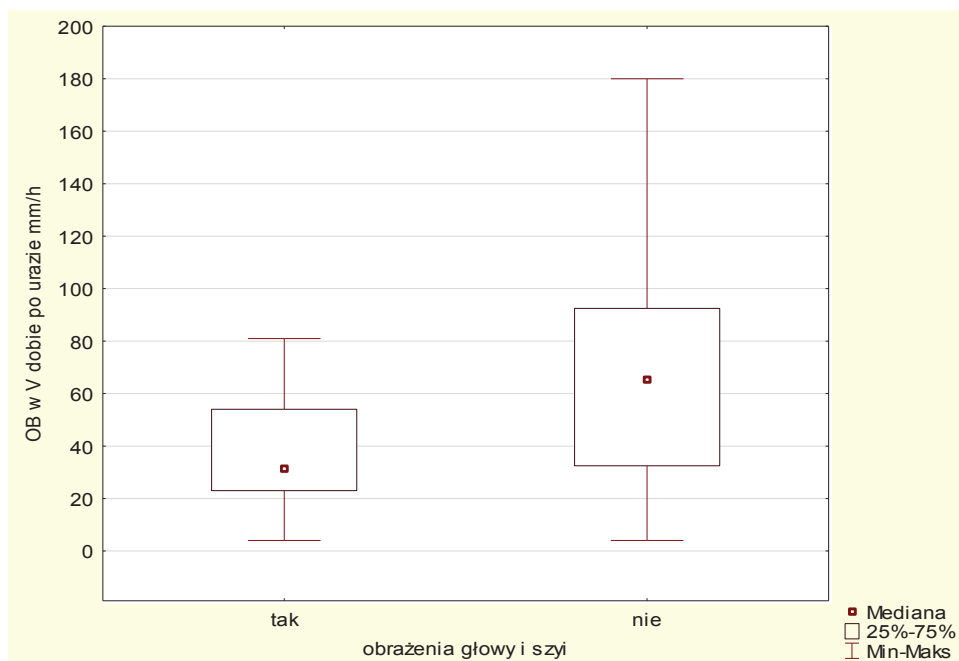
W grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) nie wykazano korelacji wartości podstawowych parametrów stanu zapalnego i liczby punktów w skali GCS.

1.6. Zależność pomiędzy parametrami stanu zapalnego, a lokalizacją obrażeń oraz występowaniem chorób dodatkowych

Wykazano ujemną korelację pomiędzy obecnością obrażeń głowy i szyi jako elementu MOC w grupie badanej (Gb), a wartością CRP w II dobie po urazie oraz OB w V dobie po urazie (wykres 14 i 15). Nie wykazano zależności pomiędzy obrażeniami głowy i szyi, a liczbą leukocytów w poszczególnych dobach, jak również CRP w I dobie i OB w I i II dobie od urazu.



Wykres 14. CRP w II dobie po urazie u chorych z mnogimi obrażeniami ciała w zależności od występowania obrażeń głowy i szyi



Wykres 15. OB w V dobie po urazie u chorych z MOC w zależności od współwystępowania obrażeń głowy i szyi

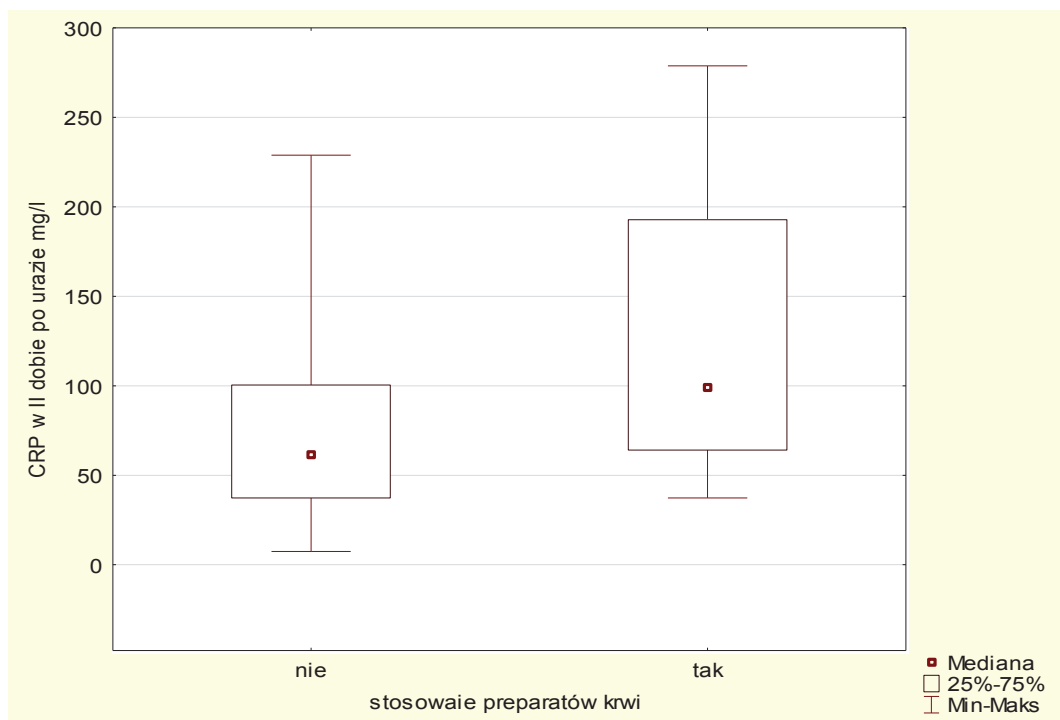
Nie wykazano zależności pomiędzy obrażeniami w pozostałych anatomicznych okolicach ciała, tj. klatki piersiowej wraz z kręgosłupem piersiowym, jamy brzusznej wraz z miednicą i kręgosłupem lędźwiowym, kończyn oraz okolic „wstrząsorodnych” w zespole MOC, a liczbą leukocytów, wartością CRP i OB w poszczególnych dobach od urazu.

Nie wykazano zależności podstawowych parametrów reakcji zapalnej od występowania dodatkowych chorób przed urazem w grupach Gb.

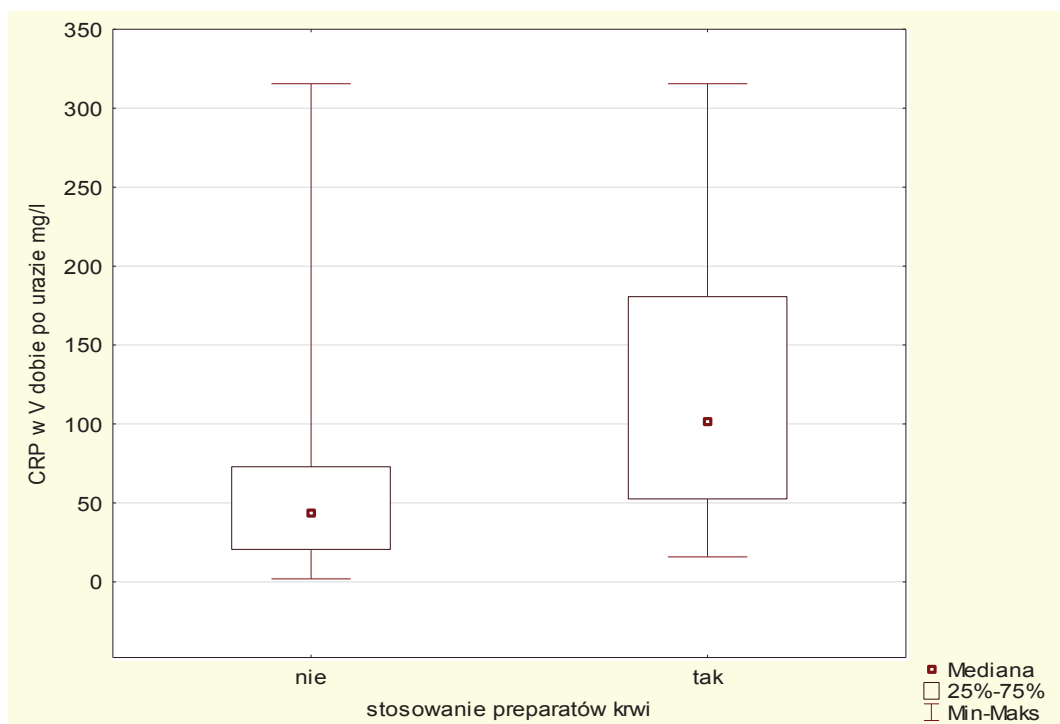
1.7. Zależność pomiędzy parametrami reakcji zapalnej, a postępowaniem leczniczym t.j. przetoczeniem preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego

Nie wykazano statystycznie znamiennych różnic w zakresie liczby leukocytów w poszczególnych dobach w grupie badanej (Gb) w zależności od przetoczenia preparatów krwi lub jego braku.

Wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości CRP w II i V dobie od urazu w grupie chorych z MOC (Gb), u których przetaczano preparaty krwi (wykres 16 i 17). Nie wykazano zależności statystycznej wartości CRP w dobie I od stosowania preparatów krwi.



Wykres 16. CRP w II dobie po urazie u chorych MOC w grupie chorych, u których stosowano przetoczenia preparatów krwi i chorych nie leczonych krwią



Wykres 17. CRP w II dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych, u których stosowano przetoczenia preparatów krwi i chorych nie leczonych krwią

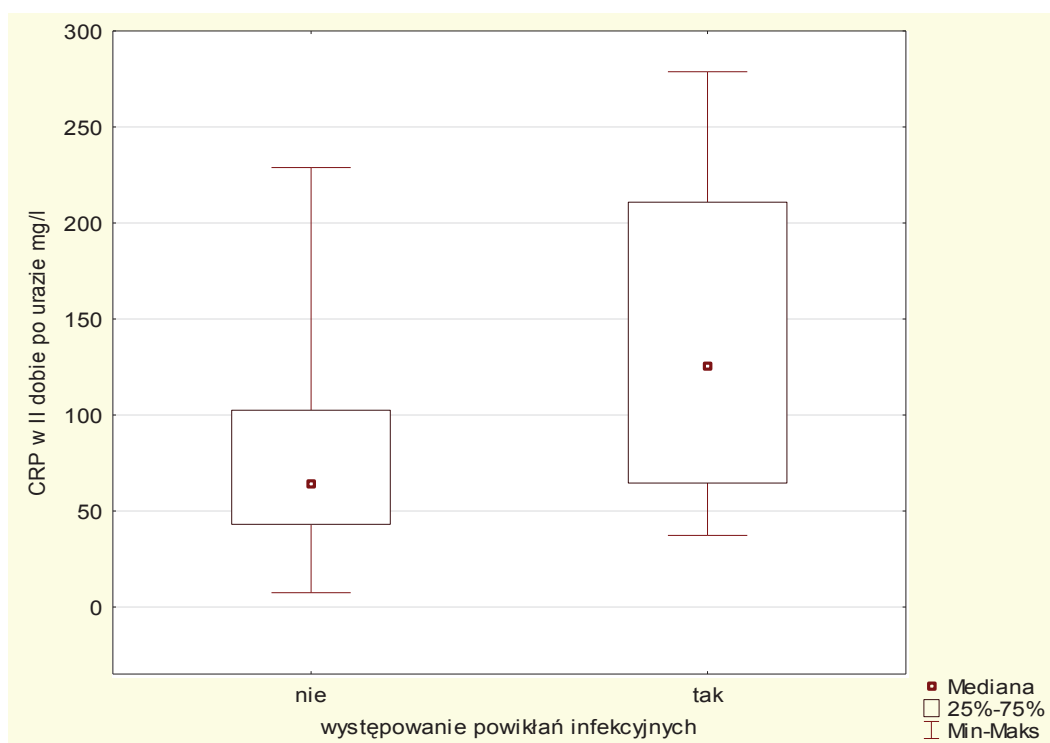
Nie wykazano statystycznie znamiennych różnic w zakresie OB w poszczególnych dobach w grupie badanej (Gb) w zależności od przetoczenia preparatów krwi lub jego braku.

Nie wykazano zależności statystycznej wartości podstawowych parametrów reakcji zapalnej w poszczególnych dobach w grupie badanej (Gb) w zależności od doby przeprowadzenia zabiegu operacyjnego.

1.8. Ocena podstawowych parametrów stanu zapalnego w zależności od występowania powikłań infekcyjnych

Nie wykazano zależności statystycznej liczby leukocytów w grupie chorych z MOC (Gb) w poszczególnych dobach od urazu, a występowaniem powikłań infekcyjnych.

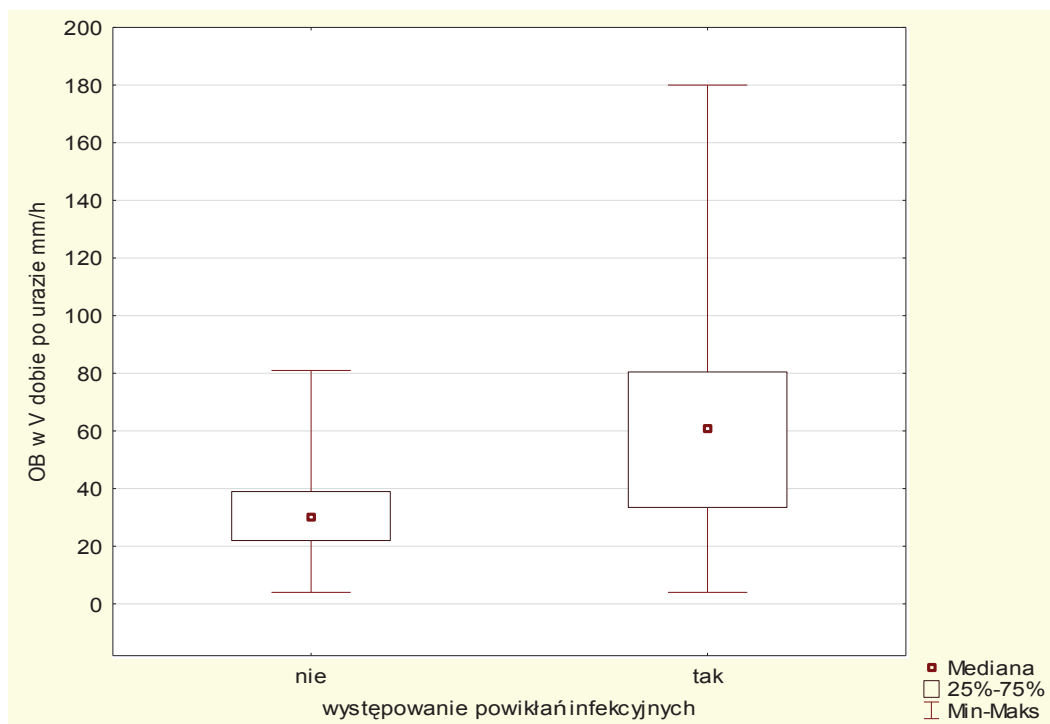
Wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości CRP w II dobie od urazu w grupie chorych z MOC (Gb) przy $p < 0,05$, u których wystąpiły w późniejszym okresie powikłania zakaźne (zakażenie rany, zapalenie płuc, infekcja dróg moczowych). (wykres 18). Nie wykazano takiej zależności w dobie I i V.



Wykres 18. CRP w II dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i w grupie chorych bez powikłań

Analiza czułości i specyficzności wykazała punkt odcięcia wartości CRP na poziomie 154,4 – czułość 50%, specyficzność 93,5%.

Wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości OB w V dobie po urazie, u chorych z MOC (Gb), u których stwierdzono w późniejszym okresie powikłania infekcyjne (wykres 19). Nie wykazano takiej zależności w dobie I i II.



Wykres 19. OB w V dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań

2. Analiza poziomu wybranych cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych

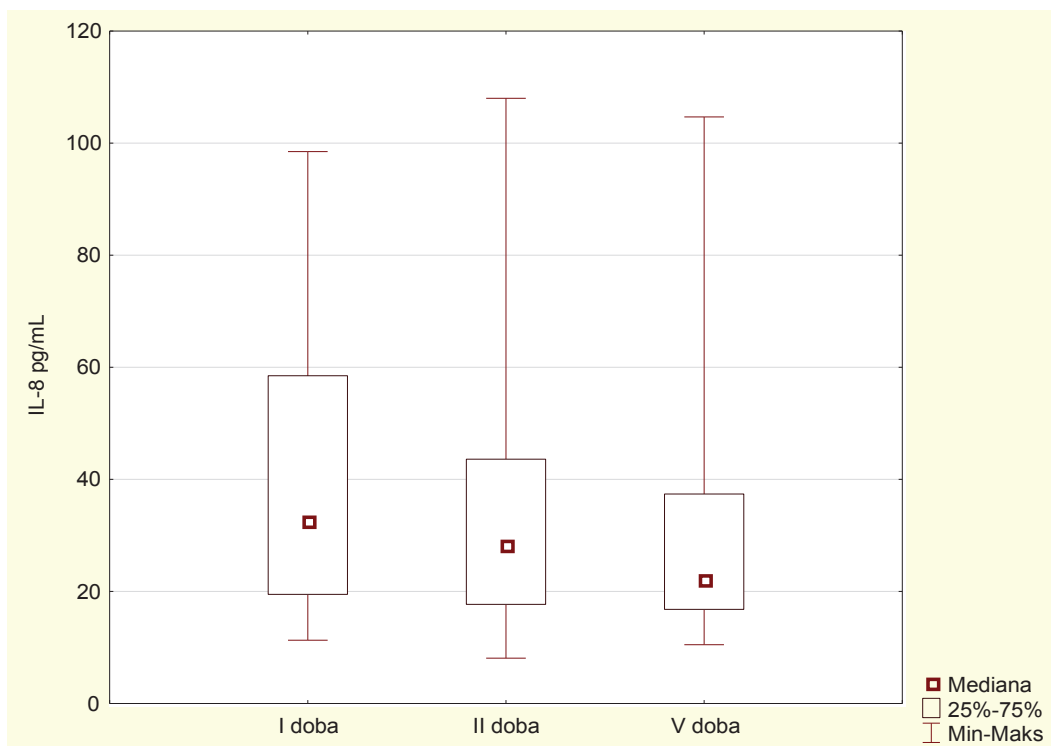
2.1. Grupa chorych z mnogimi obrażeniami ciała

Poziom badanych cytokin w grupie badanej (Gb) w poszczególnych dobach od urazu przedstawiono w tabeli 10 poniżej.

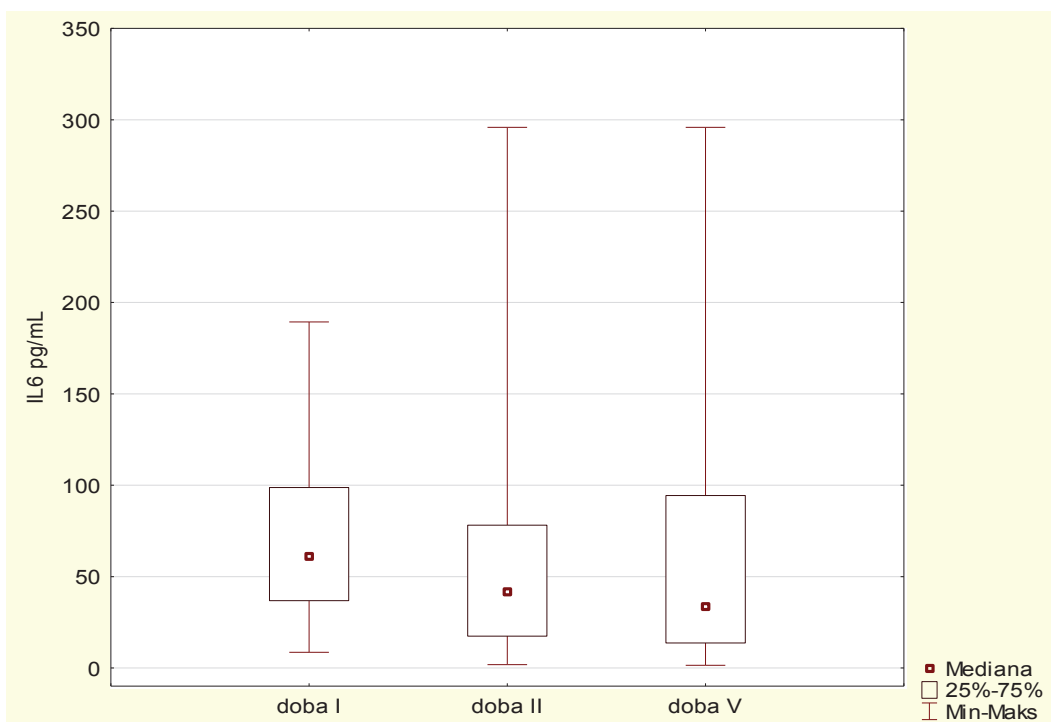
Tabela 10. Poziomy cytokin w surowicy chorych z MOC (Gb) pg/ml

Cytokina	Doba od urazu	I	II	V
	Parametr			
IL8	Minimum	11,3	8,1	10,5
	Maksimum	98,5	108	110,5
	Średnia	39,93	33,98	28,55
	Odchylenie standardowe	23,74	19,11	16,76
	Mediana	32,6	22,05	22,4
IL1 β	Minimum	0	0	0
	Maksimum	0	295	295,1
	Średnia	0	6,78	11,59
	Odchylenie standardowe	0	41,8	57,6
	Mediana	0	0	61,5
IL6	Minimum	8,6	1,8	1,4
	Maksimum	189,4	295,9	295,8
	Średnia	73,57	68,2	64,78
	Odchylenie standardowe	50,23	56,67	68,33
	Mediana	61,5	41	34,4
IL10	Minimum	0	0	0
	Maksimum	13,8	28,6	37,6
	Średnia	2,41	2,09	5,47
	Odchylenie standardowe	4,27	5,01	17,47
	Mediana	0	0	0
TNF	Minimum	0	0	0
	Maksimum	1,5	9,3	10,2
	Średnia	0,18	0,34	0,8
	Odchylenie standardowe	7,95	0,43	1,38
	Mediana	0	0	0
IL12p70	Minimum	0	0	0
	Maksimum	1,4	14	14
	Średnia	0,13	0,45	0,98
	Odchylenie standardowe	0,41	2,04	3,03
	Mediana	0	0	0

Wykazano statystycznie znamienne obniżające się poziomy IL8 i IL6 w poszczególnych dobach od urazu (wykres 20 i 21). Nie stwierdzono różnic statystycznych poziomu pozostałych badanych cytokin w poszczególnych dobach.



Wykres 20. Poziomy IL8 w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb) pg/ml



Wykres 21. Poziomy IL6 w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb) pg/ml

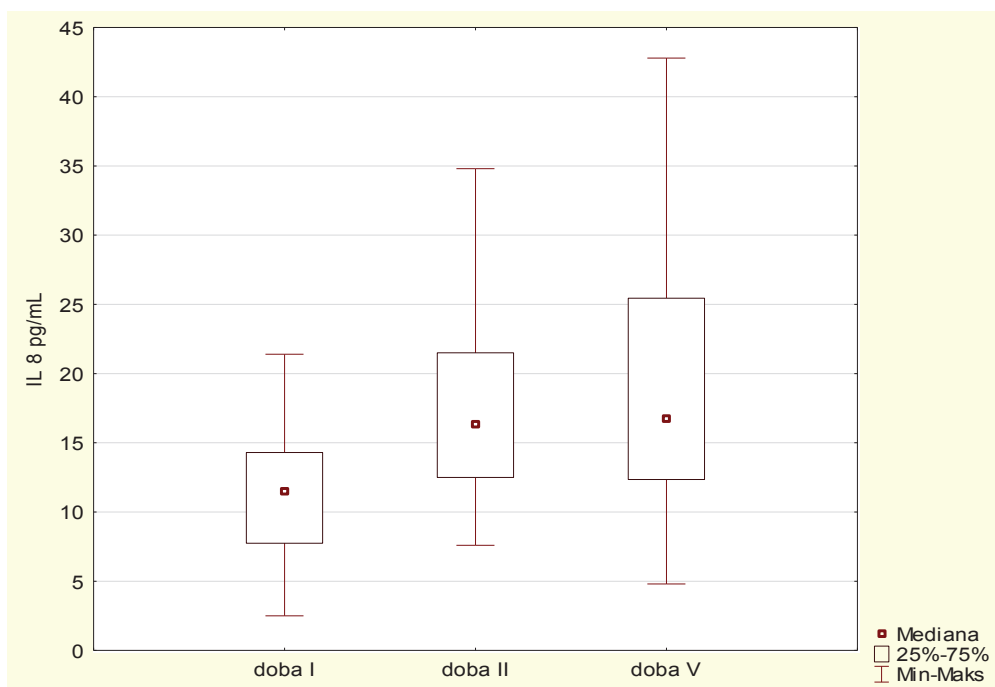
2.2. Grupa kontrolna G2 – chorzy z pojedynczymi obrażeniami ciała

Poziomy badanych cytokin w grupie kontrolnej G2 w poszczególnych dobach od urazu przedstawiono w tabeli 11 poniżej.

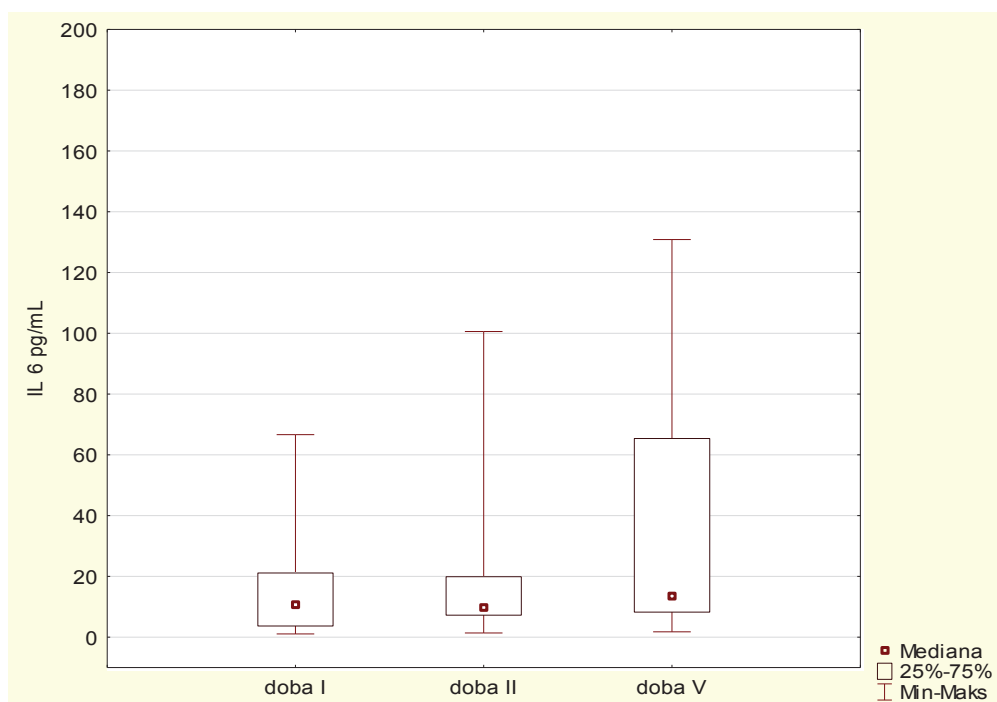
Tabela 11. Poziom cytokin w surowicy chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) pg/ml

Cytokina	Doba od urazu Parametr	I	II	V
IL8	Minimum	2,5	4,6	4,8
	Maksimum	21,4	34,8	42,8
	Średnia	10,95	17,41	19,37
	Odchylenie standardowe	5,42	6,98	11,09
	Mediana	11,4	16,4	16,75
IL1β	Minimum	0	0	0
	Maksimum	0,8	10,8	8,1
	Średnia	0,06	1,02	0,96
	Odchylenie standardowe	0,19	3,14	2,28
	Mediana	0	0	0
IL6	Minimum	1,1	1,4	1,8
	Maksimum	66,7	100,6	130,9
	Średnia	16,03	20,87	38,21
	Odchylenie standardowe	16,23	26,93	42,73
	Mediana	10,65	10	13,6
IL10	Minimum	0	0	0
	Maksimum	1,5	3,1	9,9
	Średnia	0,46	0,27	1,53
	Odchylenie standardowe	0,65	0,85	3,25
	Mediana	0	0	0
TNF	Minimum	0	0	0
	Maksimum	0	2,6	4,9
	Średnia	0	0,26	0,92
	Odchylenie standardowe	0	0,8	0,89
	Mediana	0	0	0
IL12p70	Minimum	0	0	0
	Maksimum	1,2	3,1	5,4
	Średnia	0,06	0,28	0,9
	Odchylenie standardowe	0,27	0,88	1,88
	Mediana	0	0	0

Wykazano statystycznie znamienne rosnące poziomy IL8 i IL6 w poszczególnych dobach od urazu (wykres 22 i 23). Nie stwierdzono różnic statystycznych poziomu pozostałych badanych cytokin w poszczególnych dobach.



Wykres 22. Poziomy IL8 w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (Gb) pg/ml



Wykres 23. Poziomy IL6 w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (Gb) pg/ml

2.3. Grupa kontrolna zdrowych ochotników G1

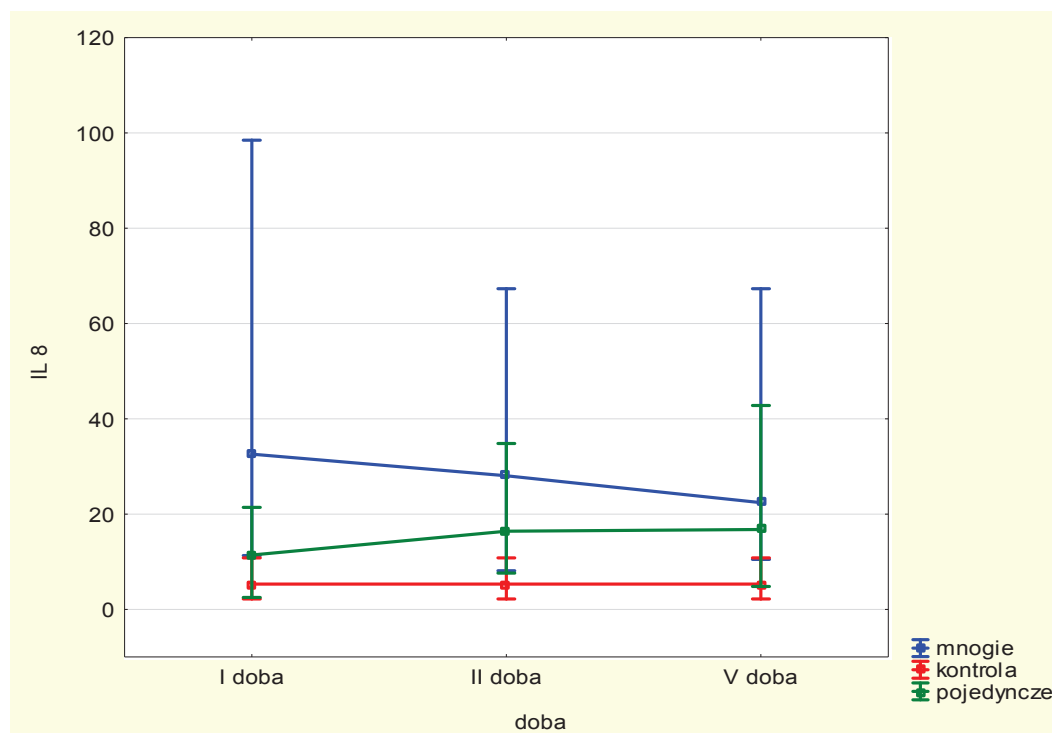
Poziom badanych cytokin w grupie kontrolnej G1 przedstawiono w tabeli 12 poniżej.

Tabela 12. Poziomy cytokin w surowicy zdrowych ochotników (G1) pg/ml

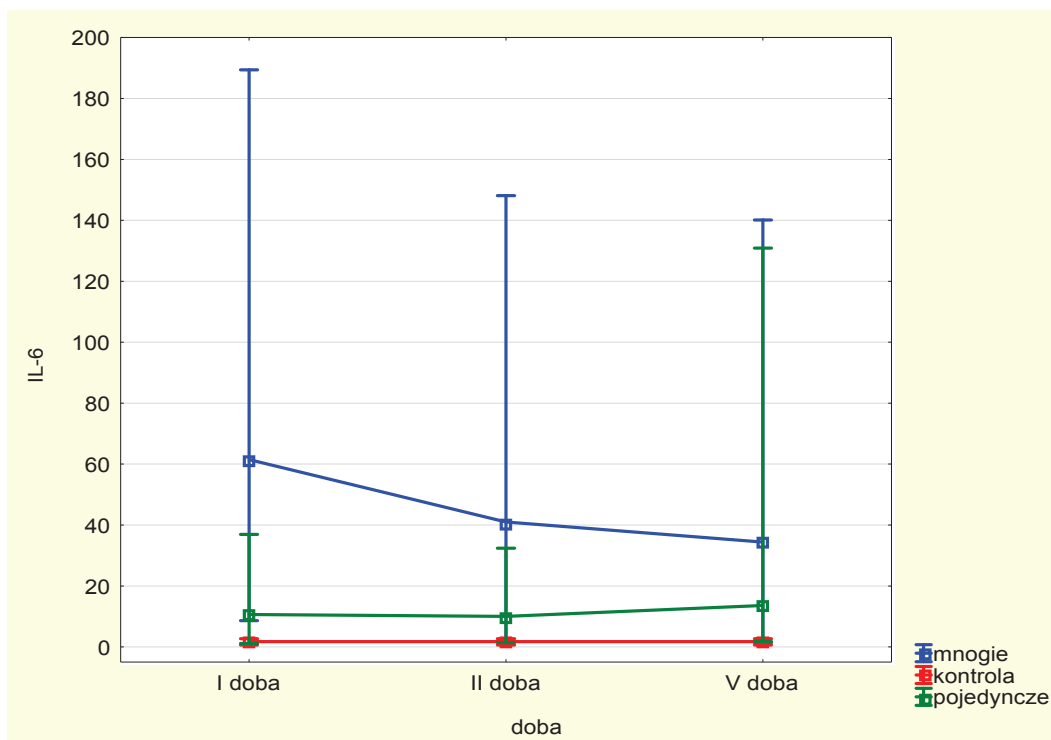
Cytokina	Parametr	Wartość
IL8	Minimum	2,2
	Maksimum	10,8
	Średnia	5,99
	Odchylenie standardowe	3,04
	Mediana	5,3
IL1β	Minimum	0,1
	Maksimum	0,2
	Średnia	0,105
	Odchylenie standardowe	0,02
	Mediana	0,1
IL6	Minimum	0,6
	Maksimum	2,7
	Średnia	1,72
	Odchylenie standardowe	0,52
	Mediana	1,75
IL10	Minimum	0,1
	Maksimum	1,5
	Średnia	0,45
	Odchylenie standardowe	0,56
	Mediana	0,1
TNF	Minimum	0,1
	Maksimum	0,15
	Średnia	0,102
	Odchylenie standardowe	0,01
	Mediana	0,1
IL12p70	Minimum	0,1
	Maksimum	2,3
	Średnia	0,62
	Odchylenie standardowe	0,82
	Mediana	0,1

2.4. Porównanie pomiędzy grupami Gb, G2 i G1.

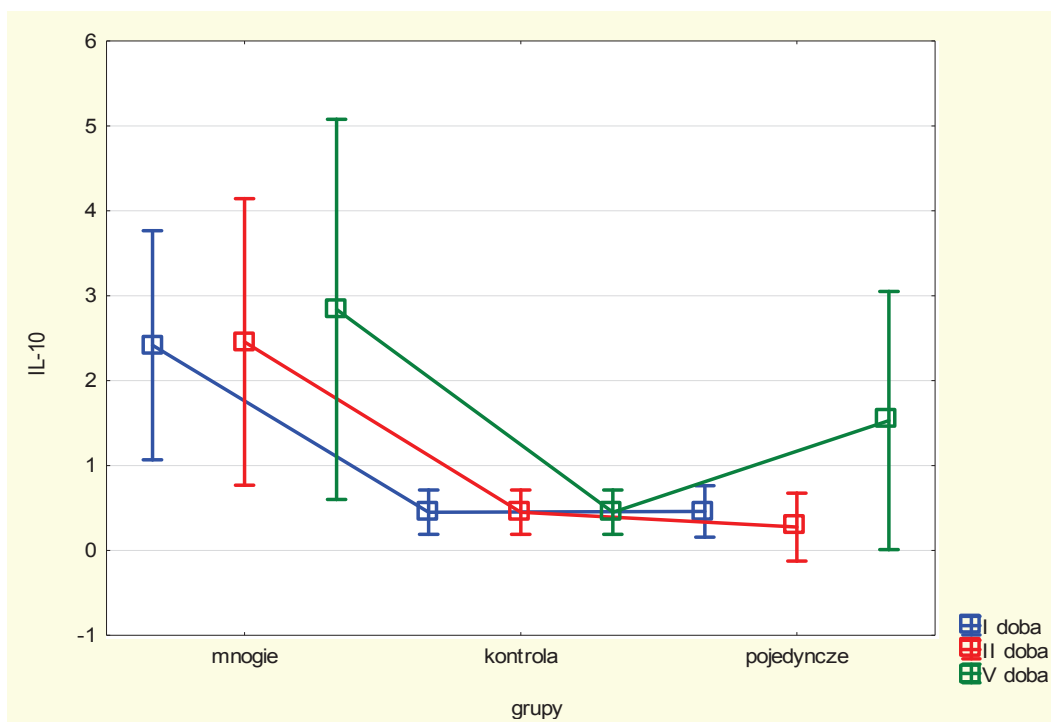
Wykazano statystycznie znamienne wyższe poziomy IL8, IL6, IL10 w grupie chorych z MOC (Gb) niż w grupie zdrowych ochotników (G1) w I, II i V dobie od urazu. Stwierdzono również wyższe poziomy IL8 w I, II i V dobie od urazu, IL6 w I i II dobie oraz IL10 w II dobie po urazie pomiędzy grupą badaną (Gb) oraz grupą kontrolną G2 (wykresy 24-26). Nie wykazano różnic statystycznych pomiędzy poszczególnymi doбами w poziomie IL12p70, IL1 β i TNF.



Wykres 24. Poziomy IL8 w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i grupach kontrolnych



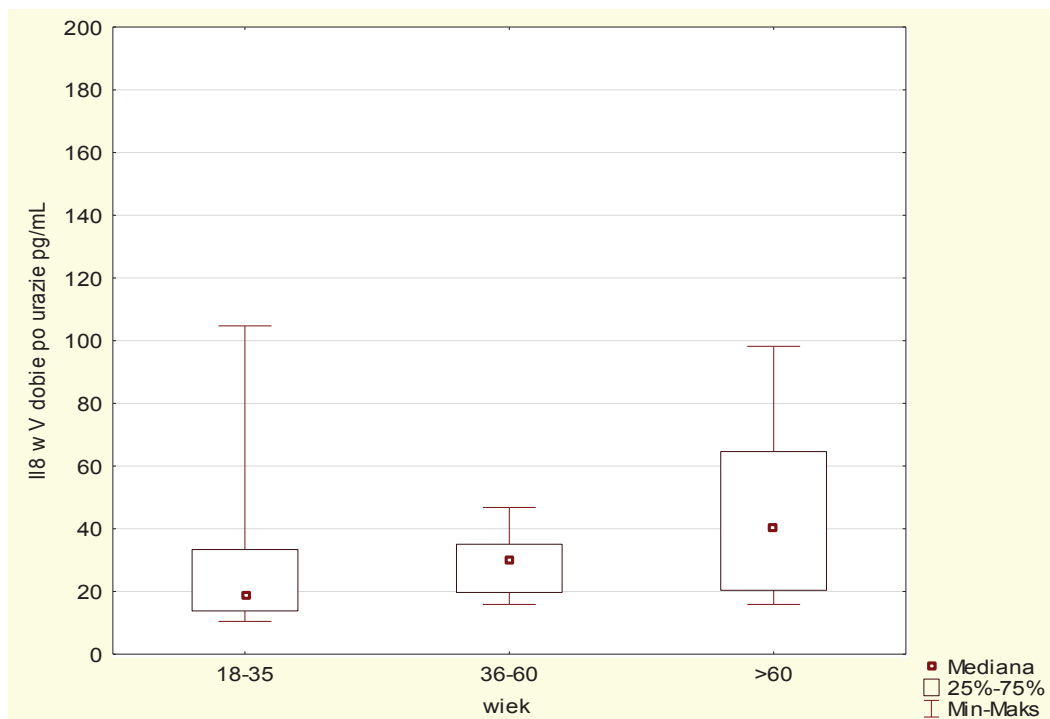
Wykres 25. Poziomy IL6 w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i grupach kontrolnych



Wykres 26. Poziomy IL10 w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i grupach kontrolnych

2.5. Poziomy cytokin w zależności od płci i wieku

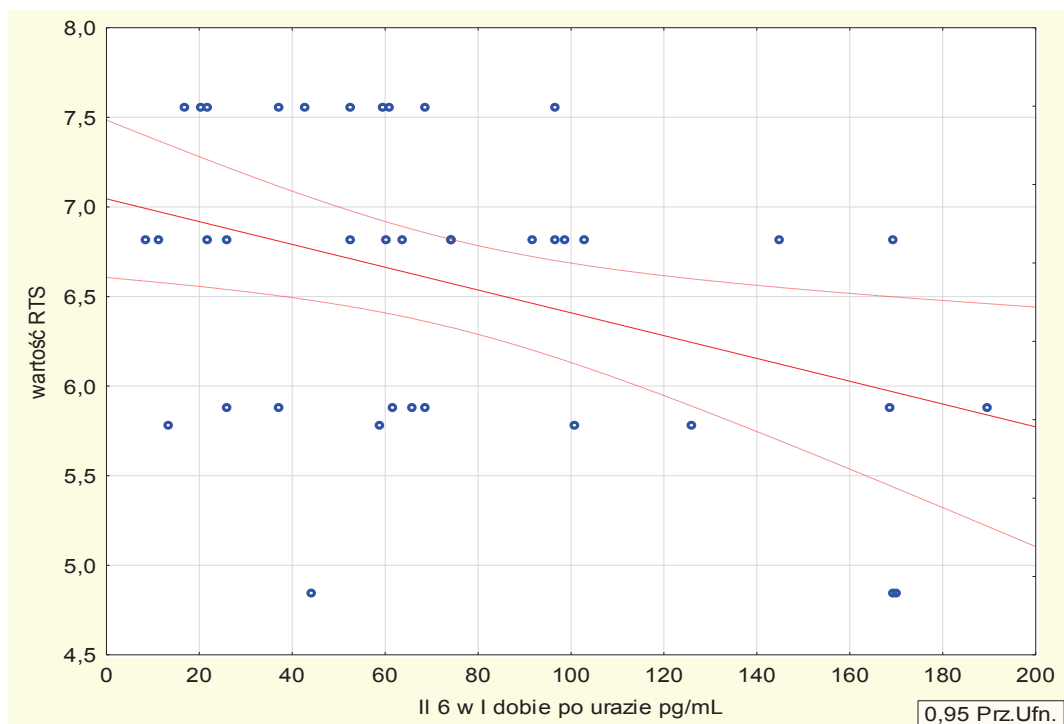
Nie stwierdzono zależności wartości badanych cytokin od płci w grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb). Wykazano statystycznie znamienne wyższe poziomy IL8 w V dobie po urazie u chorych powyżej 60 tego roku życia niż u pacjentów młodszych (wykres 27). Nie stwierdzono zależności od wieku wartości pozostałych badanych cytokin.



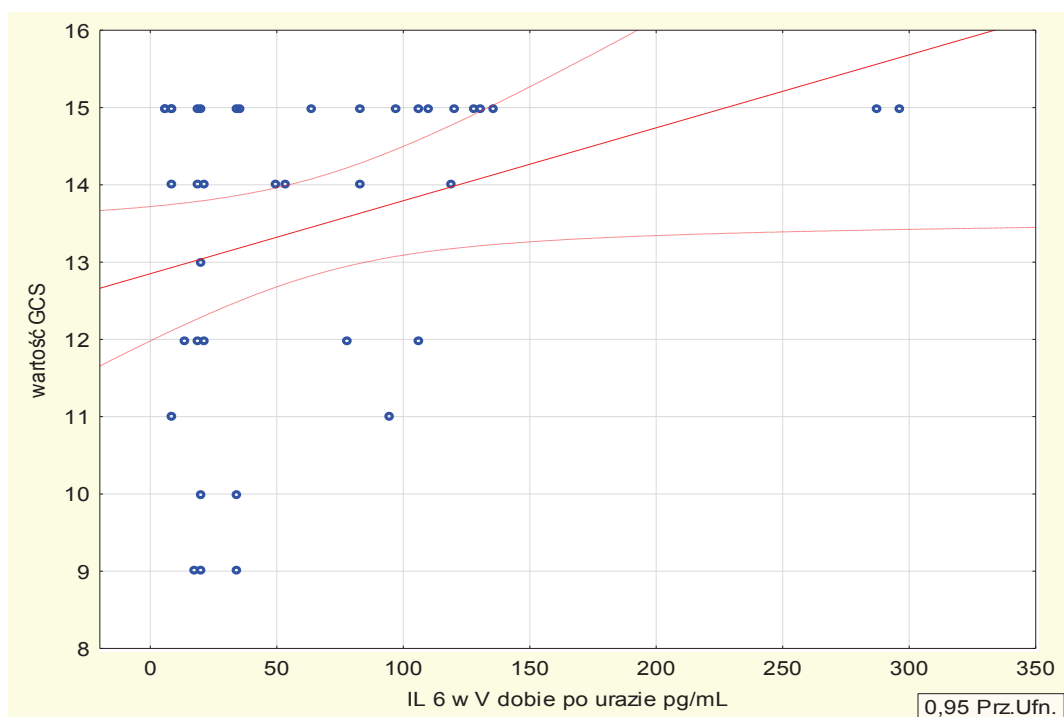
Wykres 27. Poziomy IL8 w grupie chorych z MOC w V dobie po urazie w poszczególnych zakresach wiekowych

2.6. Ocena poziomu badanych cytokin w zależności od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS

W grupie badanej (Gb) wykazano słabą dodatnią korelację pomiędzy wartością RTS i poziomem IL6 w I dobie po urazie oraz wartością GCS i poziomem IL6 w V dobie po urazie (wykresy 28,29). Nie wykazano korelacji poziomów pozostałych cytokin z wartością RTS i GCS w tej grupie.

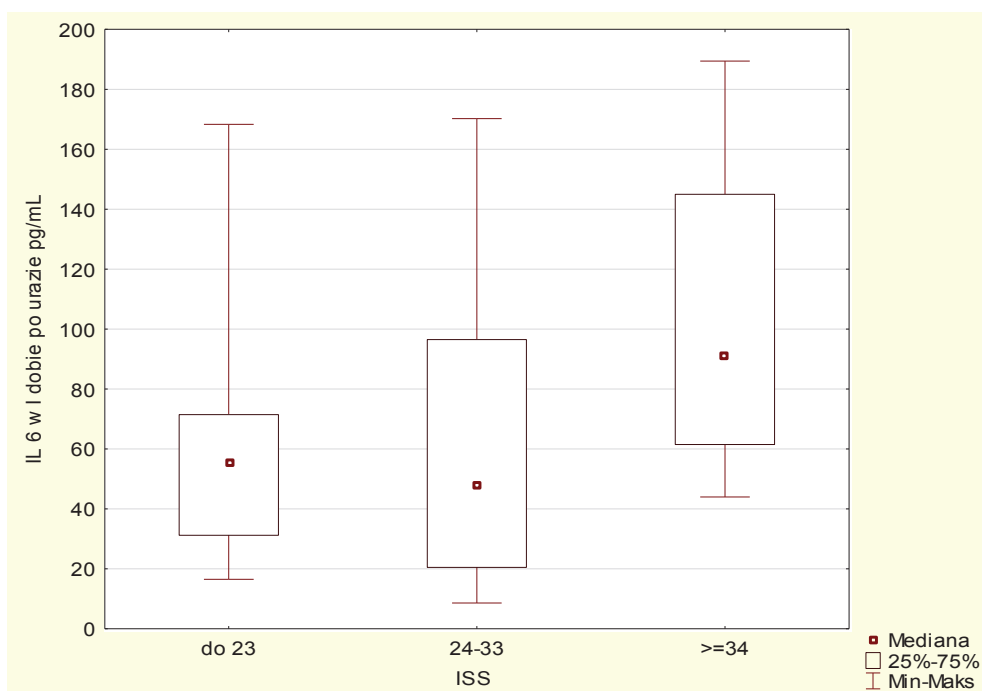


Wykres 28. Wykres rozrzutu poziomów IL6 w I dobie po urazie w grupie chorych MOC (Gb) względem wartości w skali RTS

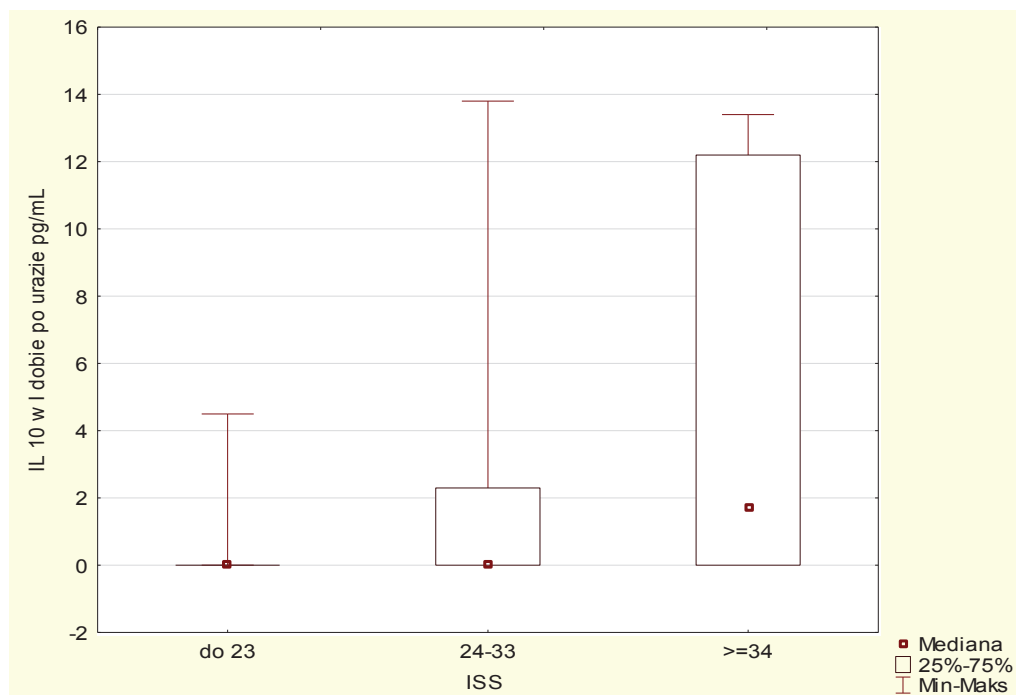


Wykres 29. Wykres rozrzutu poziomów IL6 w V dobie po urazie w grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) względem wartości w skali GCS

Stwierdzono w grupie badanej (Gb) statystycznie znamienne wyższe poziomy IL6 w I dobie po urazie oraz IL10 w V dobie po urazie u chorych z ISS >34. (wykresy 30,31). Nie stwierdzono zależności od wieku poziomu pozostałych badanych cytokin.



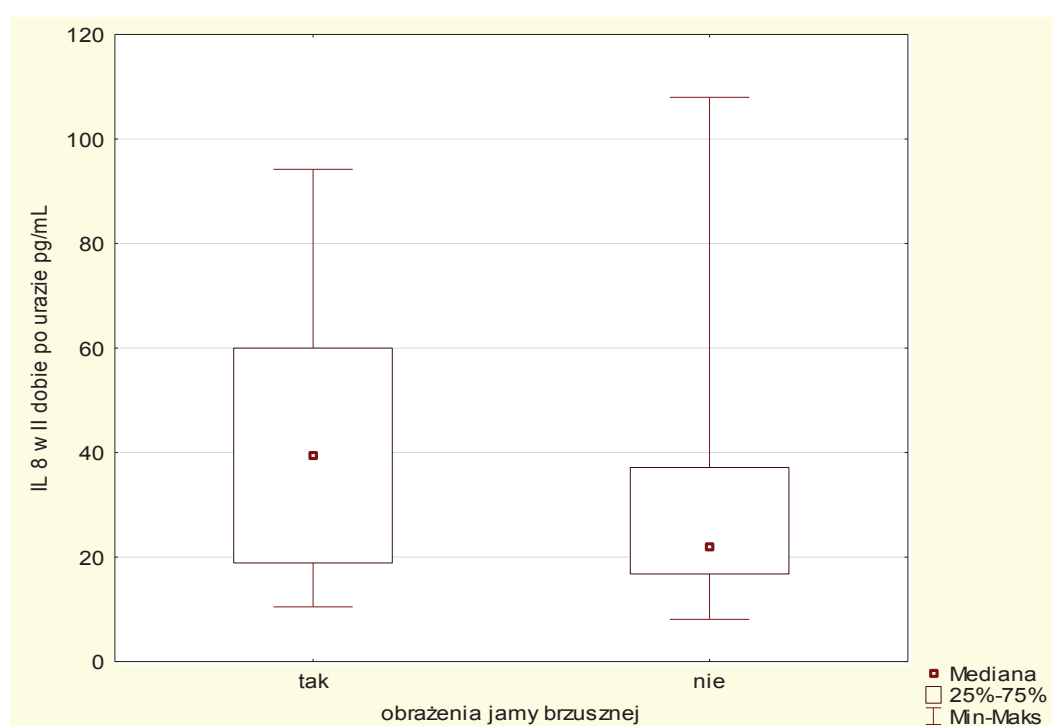
Wykres 30. Poziomy IL6 w I dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości ISS



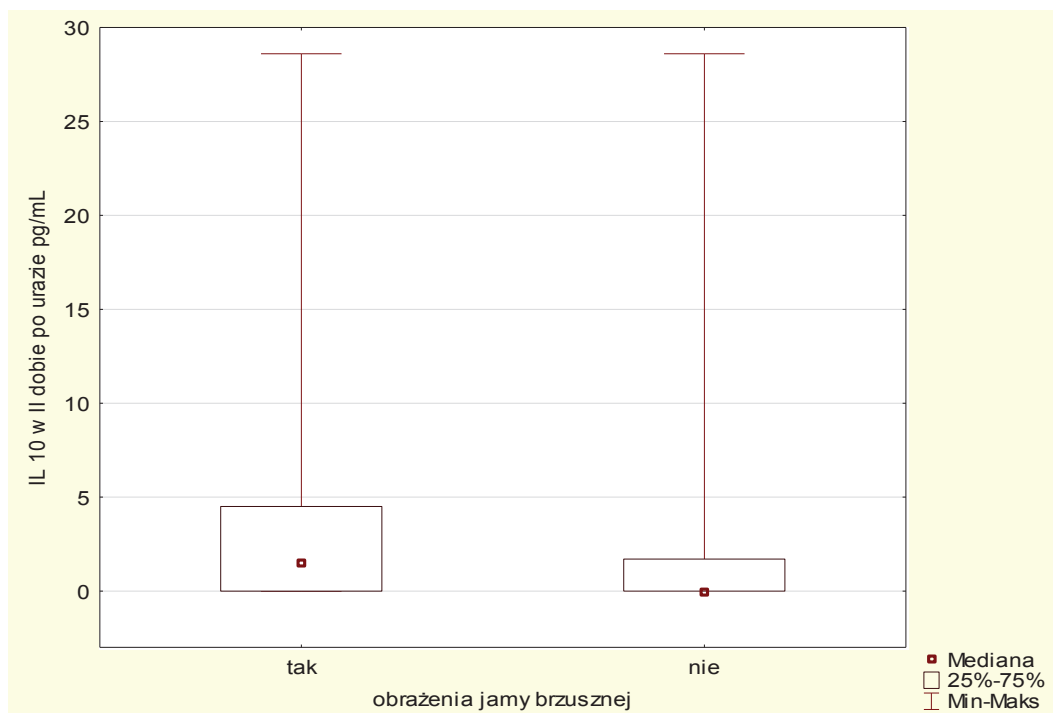
Wykres 31. Poziomy IL10 w I dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości ISS

2.7. Ocena poziomu badanych cytokin w zależności od lokalizacji doznanych obrażeń i występowania chorób istniejących przed urazem.

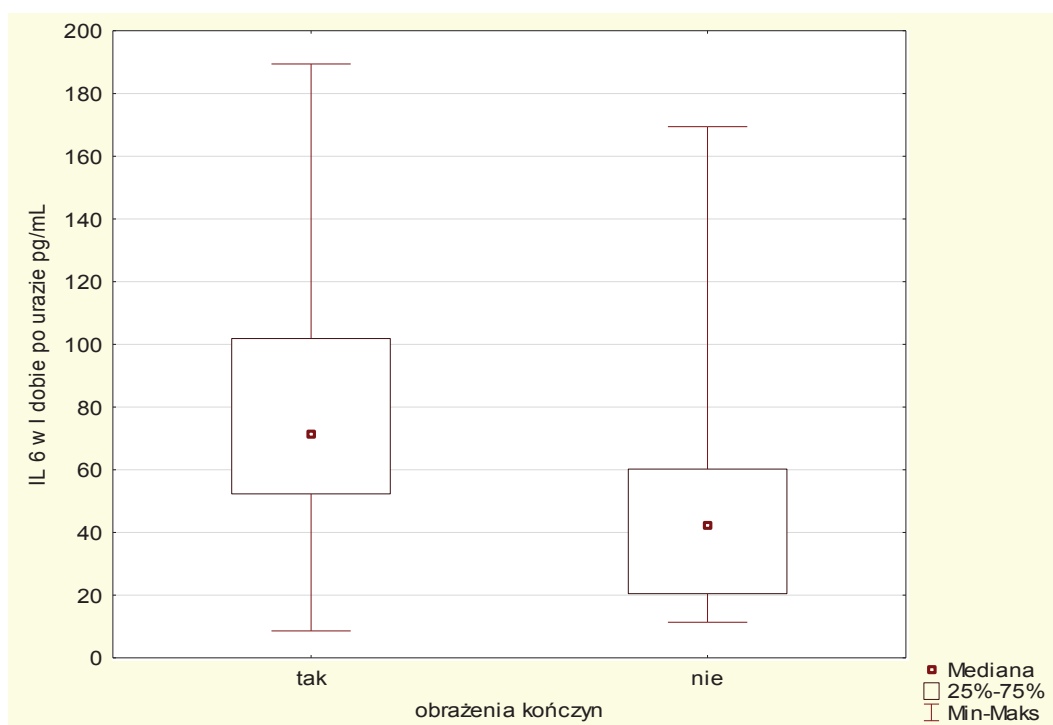
W grupie chorych z MOC (Gb) wykazano statystycznie znamienne wyższe poziomy IL8 i IL10 w II dobie po urazie u chorych z obrażeniami jamy brzusznej i miednicy oraz IL6 w I dobie po urazie u chorych z obrażeniami kończyn (wykresy 32-34). Nie wykazano korelacji poziomów pozostałych badanych cytokin i okolicy doznanych obrażeń.



Wykres 32. IL8 w II dobie po urazie u chorych z MOC w zależności od występowania obrażeń jamy brzusznej



Wykres 33. IL10 w II dobie po urazie u chorych z MOC w zależności od występowania obrażeń jamy brzusznej



Wykres 34. IL6 w I dobie po urazie u chorych z MOC w zależności od występowania obrażeń układu ruchu

Nie stwierdzono zależności poziomu badanych cytokin od występowania chorób dodatkowych przed urazem w grupie Gb

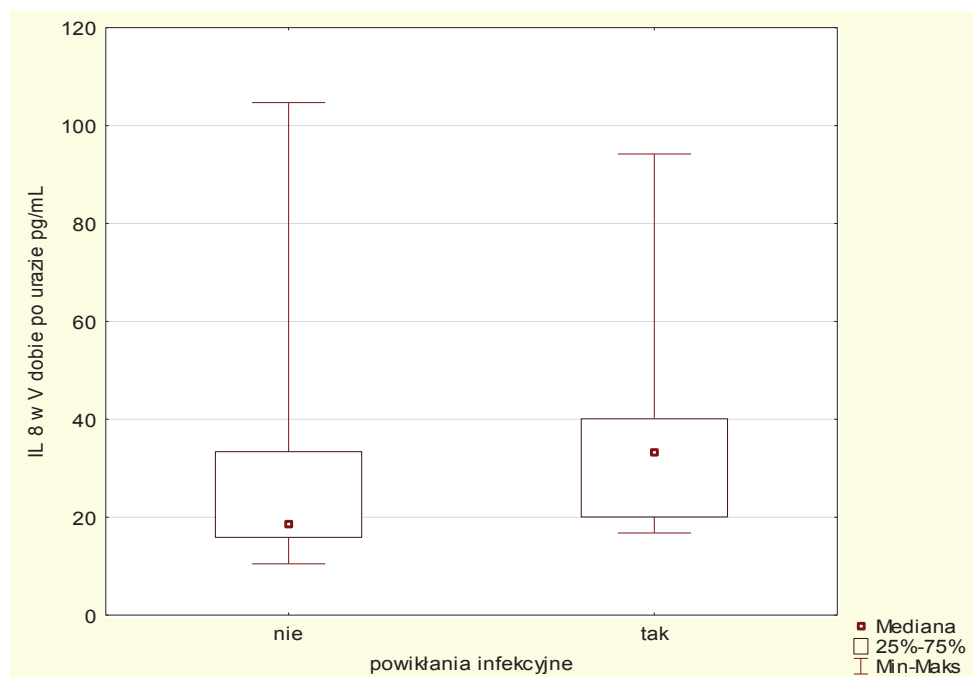
2.8. Zależność poziomu badanych cytokin od postępowania leczniczego – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego

Nie wykazano zależności statystycznych pomiędzy poziomami badanych cytokin, a stosowaniem preparatów krwi zarówno w grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb).

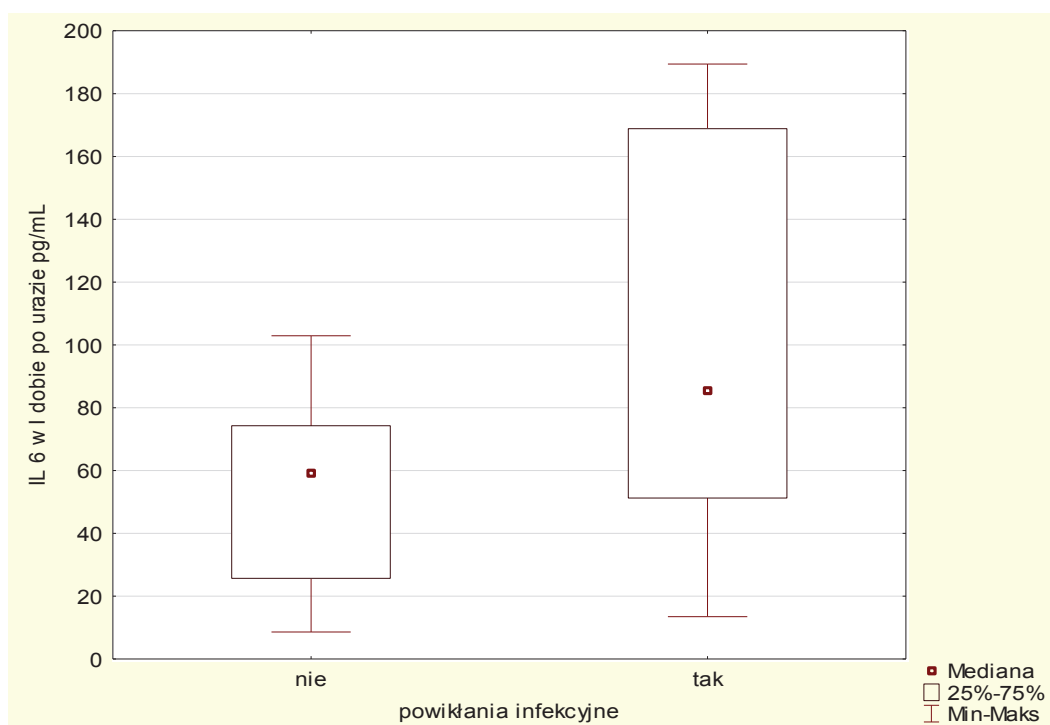
W grupie Gb nie stwierdzono zależności poziomów badanych cytokin od doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu operacyjnego.

2.9. Korelacja pomiędzy stężeniem badanych cytokin, a występowaniem powikłań infekcyjnych

Wykazano dodatnią zależność statystyczną pomiędzy poziomem IL8 w V dobie po urazie oraz IL6 w I dobie od urazu, a występowaniem powikłań infekcyjnych u chorych z MOC (Gb) (wykresy 35,36). Nie wykazano korelacji stężeń pozostałych cytokin w poszczególnych dobach z powikłaniami zakaźnymi w grupie badanej.



Wykres 35. IL8 w V dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i w grupie chorych bez powikłań



Wykres 36. IL6 w I dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i w grupie chorych bez powikłań

Analiza czułości i specyficzności, wykazała punkt odcięcia wartości IL6 w I dobie po urazie na poziomie 63,5 – czułość 68,75%, specyficzność 65,2%.

3. Aktywność fagocytarnej komórek żernych

3.1. Chorzy z mnogimi obrażeniami ciała (Gb)

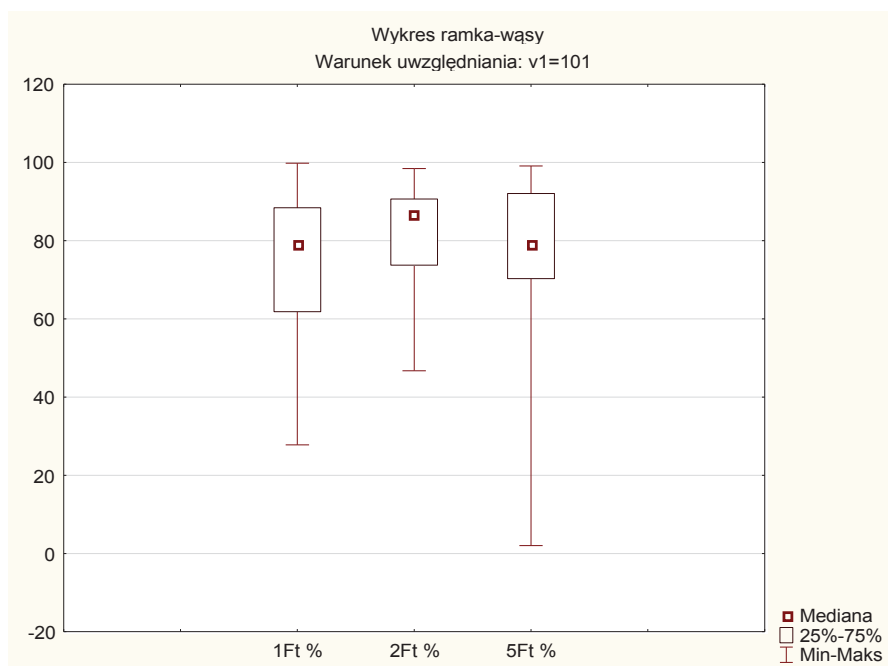
Aktywność fagocytozy we krwi wszystkich chorych, jak również zdrowych ochotników oceniano za pomocą trzech parametrów – procentu komórek aktywnych (F%), średniej fluorescencji (FGm) oraz iloczynu obu wartości (Filo) odpowiadającego realnej aktywności fagocytozy w organizmie.

W tabeli 13 przedstawiono w/w parametry w grupie chorych z MOC (Gb) w poszczególnych dobach od urazu.

Tabela 13. Aktywność fagocytarna komórek żernych w grupie badanej (Gb)

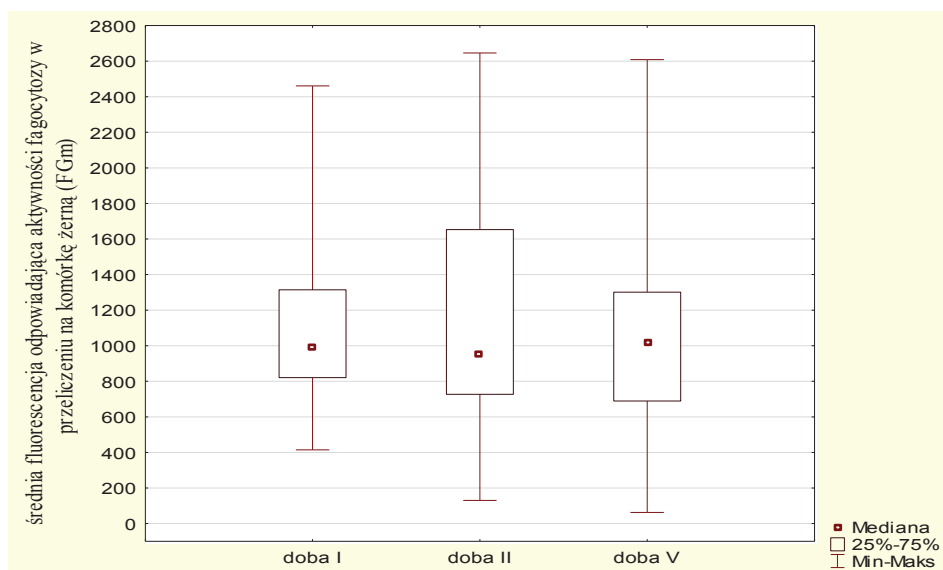
Parametr	Doba od urazu Dane	I	II	V
F%	Minimum	27,8	46,75	2,02
	Maksimum	99,8	98,45	99,11
	Średnia	75,18	81,87	76,63
	Odchylenie standardowe	18,25	14,02	20,65
	Mediana	78,85	86,41	79,26
FGm	Minimum	414,7	130,4	62,9
	Maksimum	2460,95	2646,39	2608,69
	Średnia	1073,43	1177,58	1054,49
	Odchylenie standardowe	467,63	527,82	483,76
	Mediana	995,39	950,31	1014,52
Filo	Minimum	25118,21	12313,22	156,30
	Maksimum	216957,4	187498,6	174667,4
	Średnia	80605,23	95685,04	87606,56
	Odchylenie standardowe	39566,33	42389,40	42161,47
	Mediana	83480,32	87275,92	78692,30

Wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości F% w II dobie od urazu. Nie stwierdzono różnic statystycznych pomiędzy poziomem F% w I i V dobie (wykres 37).



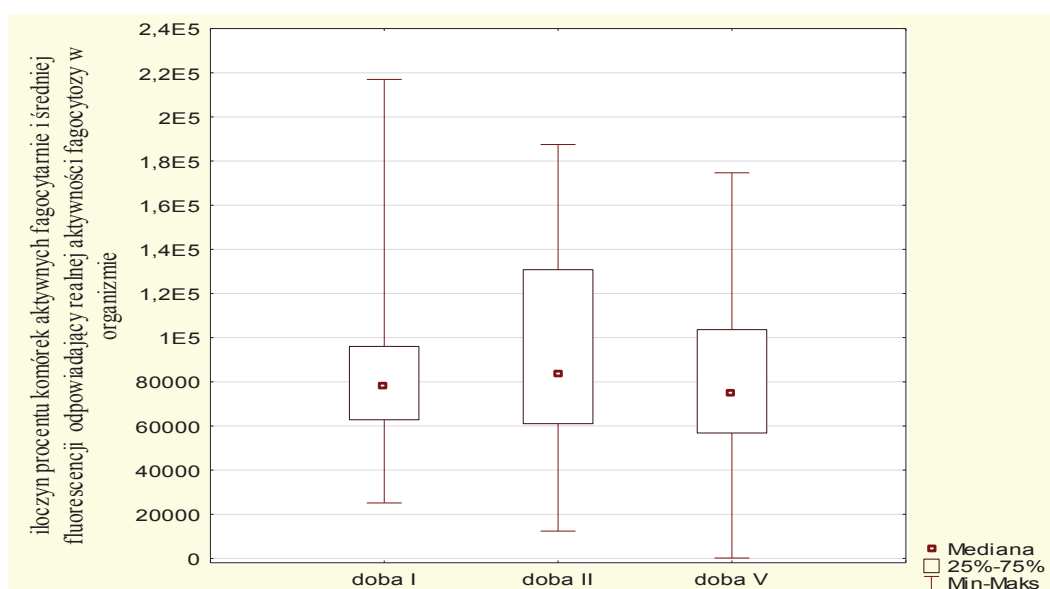
Wykres 37. Wartości procentowe komórek aktywnych fagocytarnie (F%) w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb)

Stwierdzono statystycznie wyższe poziomy FGm w II dobie od urazu. Nie stwierdzono różnic statystycznych pomiędzy poziomem FGm w I i V dobie (wykres 38).



Wykres 38. Wartości średniej fluorescencji (FGm), odpowiadającej aktywności fagocytów, w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb)

Wykazano statystycznie znamienne wyższy poziom Filo w II dobie po urazie niż w I (wykres 39). Nie wykazano znamienych różnic pomiędzy doba I i V i II i V.



Wykres 39. Wartości iloczynu średniej fluorescencji (FGm) i procentu komórek aktywnych (F%), odpowiadające realnej aktywności fagocytozy, w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb)

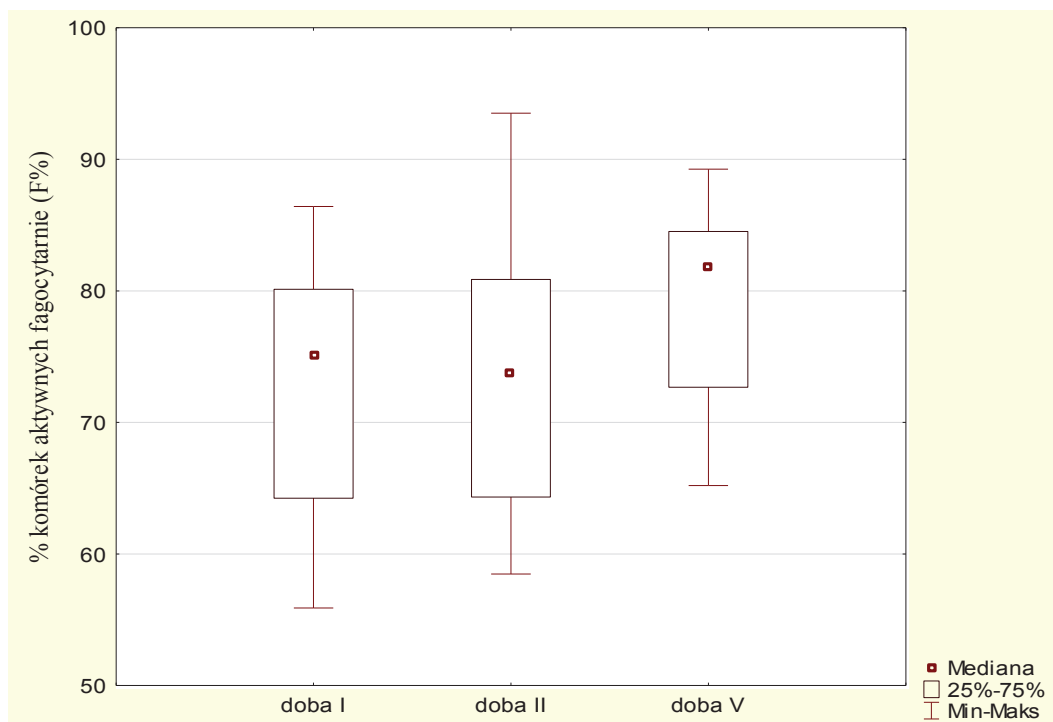
3.2. Grupa kontrolna chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2).

W tabeli 14 przedstawiono parametry fagocytozy w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) w poszczególnych dobach od urazu.

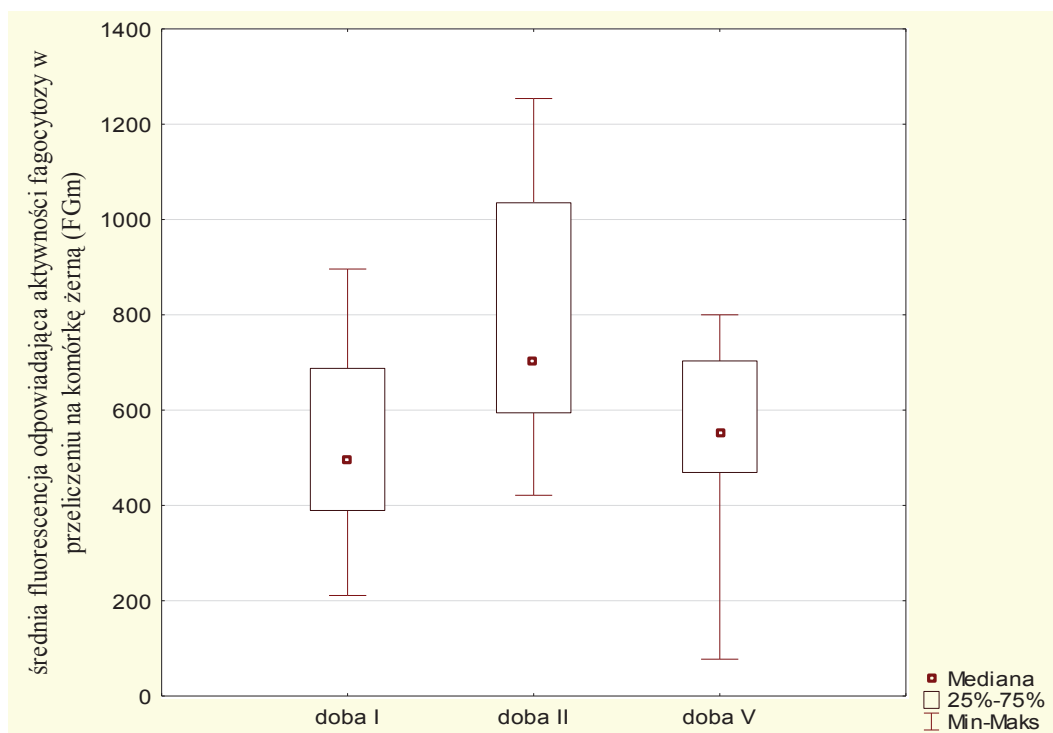
Tabela 14. Aktywność fagocytarna komórek żernych w grupie kontrolnej chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2)

Parametr	Doba od urazu Dane	I	II	V
F%	Minimum	55,89	58,45	65,2
	Maksimum	86,42	93,51	89,25
	Średnia	72,77	73,41	79,30
	Odchylenie standardowe	9,93	10,63	7,55
	Mediana	75,22	73,8	81,92
FGm	Minimum	211,26	421,3	77,38
	Maksimum	896,32	1254,1	800,25
	Średnia	525,96	779,06	543,52
	Odchylenie standardowe	191,85	247,34	194,63
	Mediana	498,96	702,52	554,60
Filo	Minimum	17464,86	27026,4	5459,93
	Maksimum	71329,15	87097,26	65172,36
	Średnia	38855,90	56259,72	43148,09
	Odchylenie standardowe	17236,06	15724,83	16020,63
	Mediana	35034,33	54149,62	41200,78

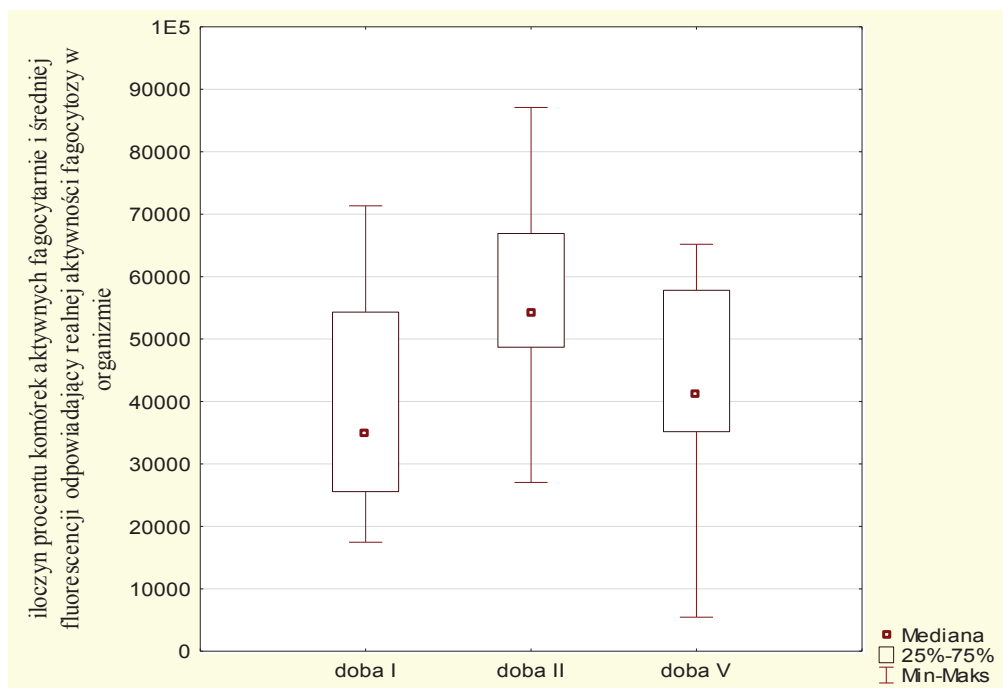
Wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości F% w kolejnych dobach badania, wartości FGm i Filo były natomiast najwyższe w II dobie od urazu (wykresy 40-42).



Wykres 40. Wartości procentowe komórek aktywnych fagocytarnie (F%) w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (Gb)



Wykres 41. Wartości średniej fluorescencji (FGm), odpowiadającej aktywności fagocytów, w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (Gb)



Wykres 42. Wartości iloczynu średniej fluorescencji (FGm) i procentu komórek aktywnych (F%), odpowiadające realnej aktywności fagocytozy, w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (Gb)

3.3. Grupa kontrolna zdrowych ochotników (G1)

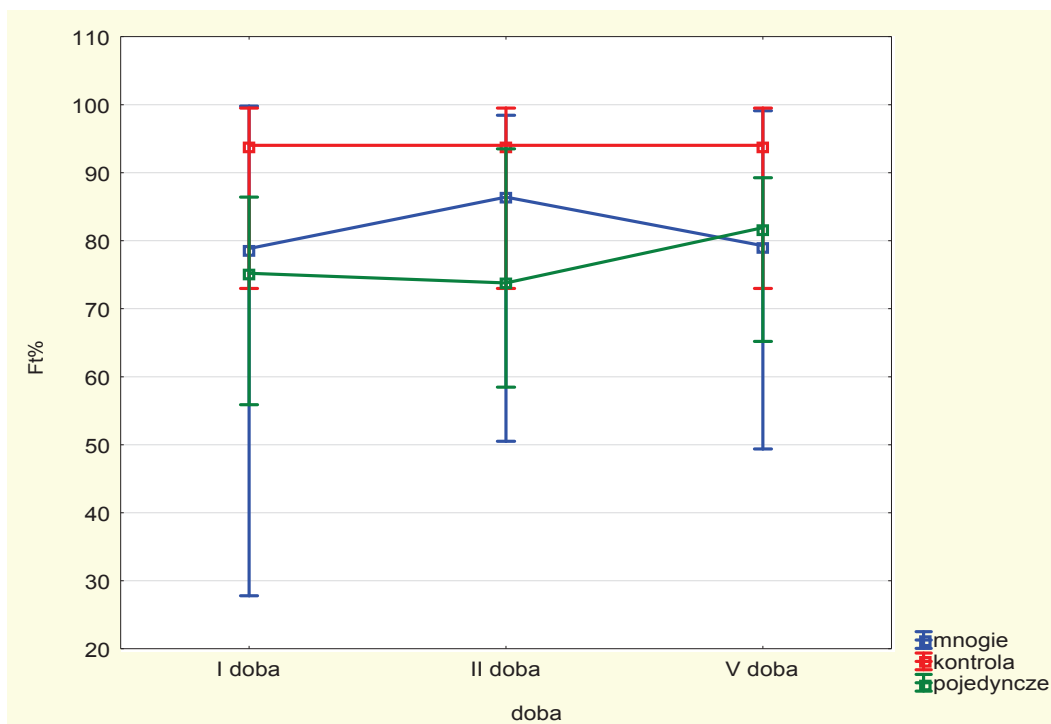
W tabeli 15 przedstawiono parametry fagocytozy w jednorazowym pomiarze w grupie zdrowych ochotników (G1).

Tabela 15. Aktywność fagocytarna komórek żernych w grupie kontrolnej chorych z obrażeniami pojedynczymi (G1)

Parametr	Dane	Wartość
F%	Minimum	72,98
	Maksimum	99,49
	Średnia	91,52
	Odchylenie standardowe	8,04
	Mediana	94,03
FGm	Minimum	689,5
	Maksimum	1698,25
	Średnia	1152,86
	Odchylenie standardowe	378,20
	Mediana	1085,77
Filo	Minimum	54632,83
	Maksimum	167600,3
	Średnia	105509,6
	Odchylenie standardowe	3039,39
	Mediana	102095,1

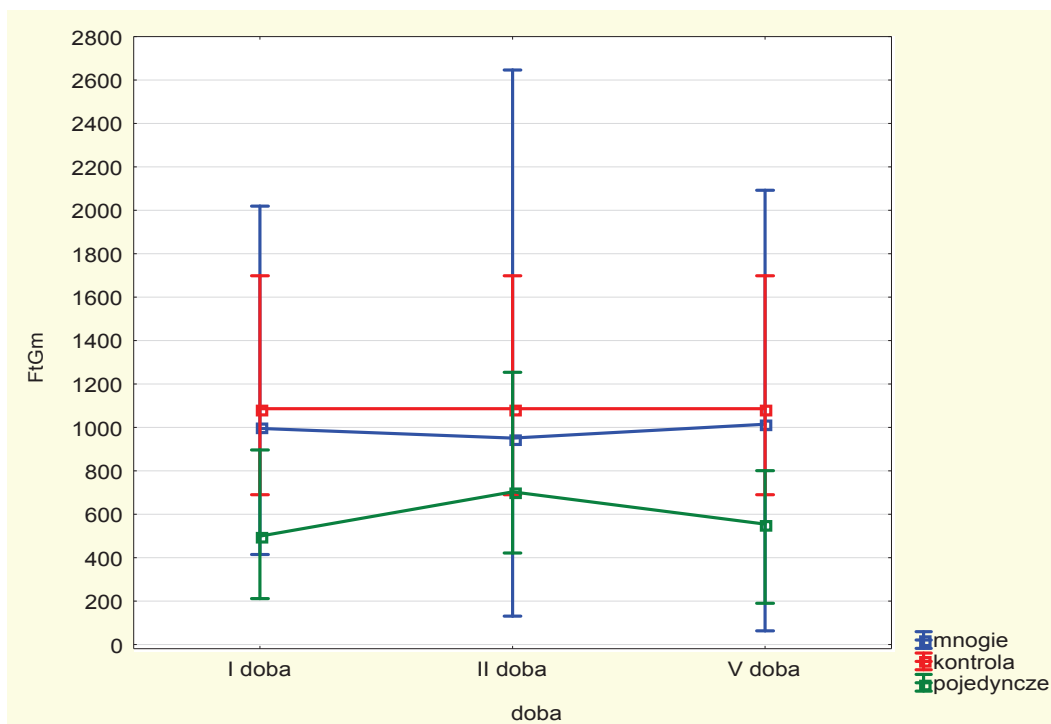
3.4. Porównanie badanych parametrów aktywności fagocytozy między grupami

Wykazano statystycznie znamienne niższe wartości F% w poszczególnych dobach w grupie badanej (Gb) i grupie kontrolnej chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) w porównaniu do grupy zdrowych ochotników (G1). Stwierdzono statystycznie niższe wartości F% w II dobie po urazie pomiędzy grupą chorych z obrażeniami mnogimi (Gb), a grupą kontrolną G2. Nie wykazano takiej różnicy w I i V dobie od urazu w tych grupach (wykres 43).



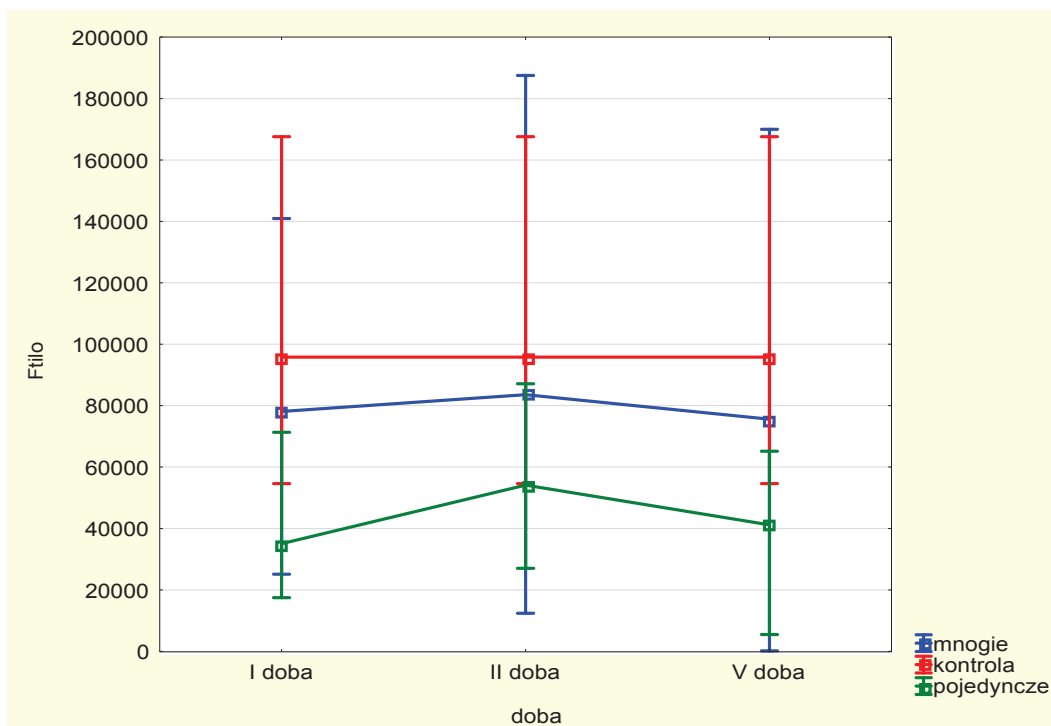
Wykres 43. Wartości procentu komórek aktywnych fagocytarnie (F%) w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i grupach kontrolnych

Wykazano statystycznie znamienne niższe wartości FGm w poszczególnych dobach w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2), w porównaniu z grupą kontrolną ochotników bez urazu (G1) i grupą badaną (Gb). Nie wykazano takiej różnicy pomiędzy grupą chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) i grupą kontrolną G1 (wykres 44).



Wykres 44. Wartości średniej fluorescencji (FGm) w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i grupach kontrolnych

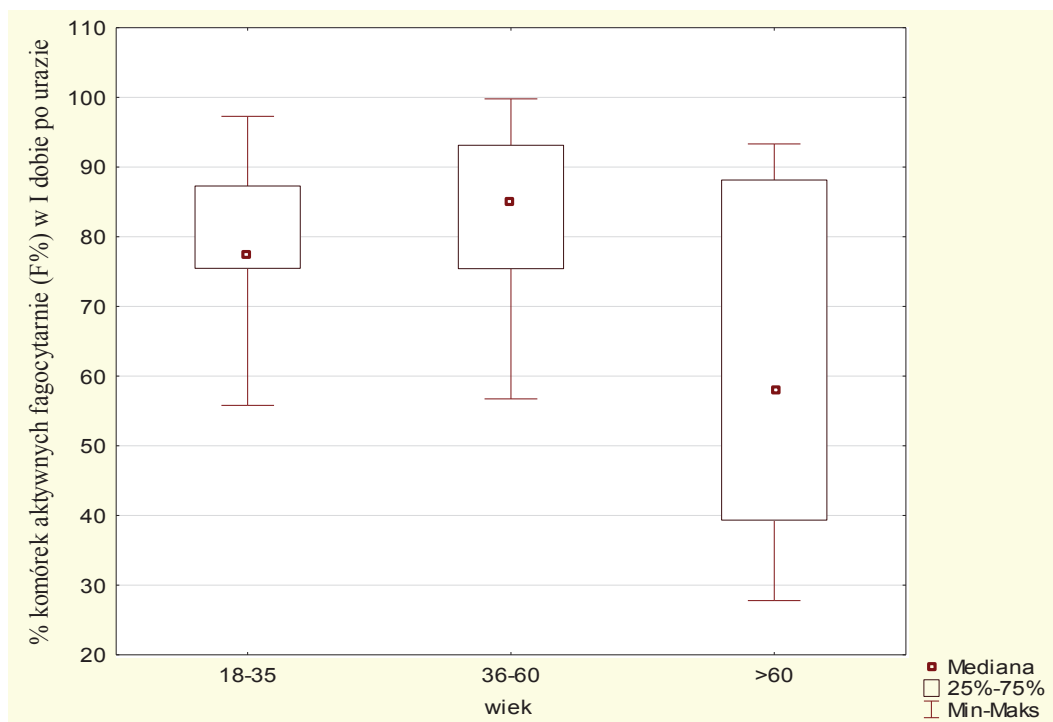
Wykazano statystycznie znamienne niższe wartości Filo w poszczególnych dobach w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) w porównaniu z grupą kontrolną ochotników bez urazu (G1). Stwierdzono również taką różnicę pomiędzy grupą badaną (Gb) i grupą kontrolną G1 w I i V dobie po urazie. Nie wykazano różnicy statystycznie znamiennej między wartościami Filo w II dobie po urazie pomiędzy grupami Gb i G1. Stwierdzono niższe wartości Filo w poszczególnych dobach w grupie G2 w porównaniu z grupą chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) (wykres 45).



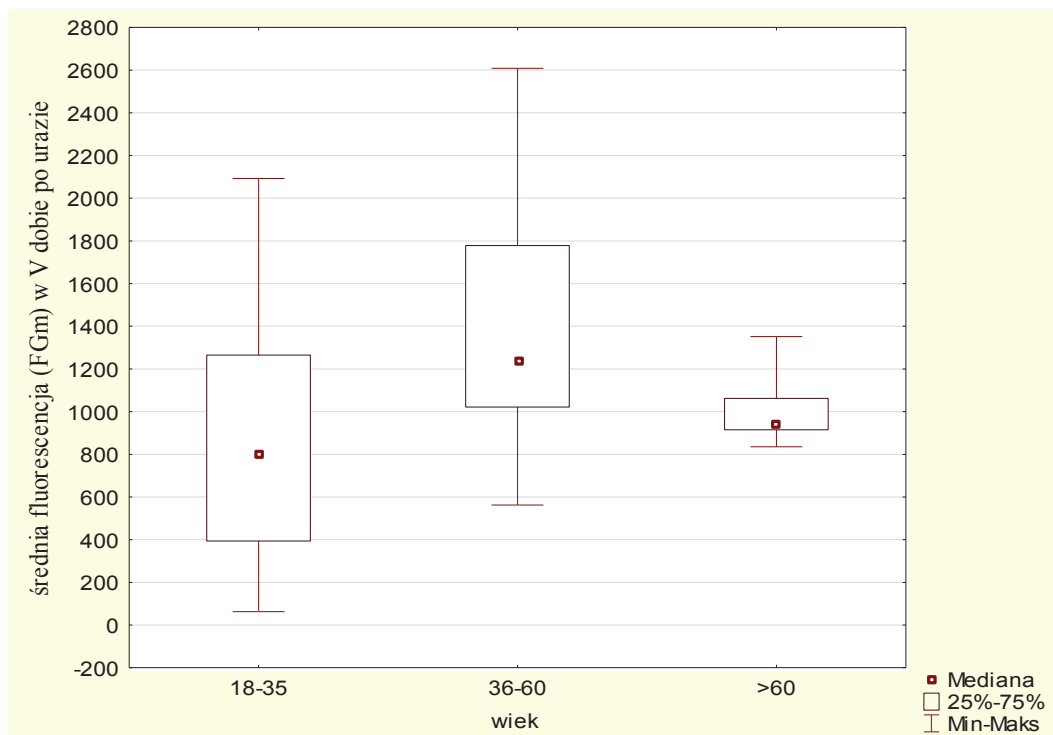
Wykres 45. Wartości iloczynu procentu komórek aktywnych i średniej fluorescencji odpowiadające całkowitej sprawności fagocytarnej (Filo) w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i grupach kontrolnych

3.5. Aktywność fagocytozy w zależności od płci i wieku chorych po urazie

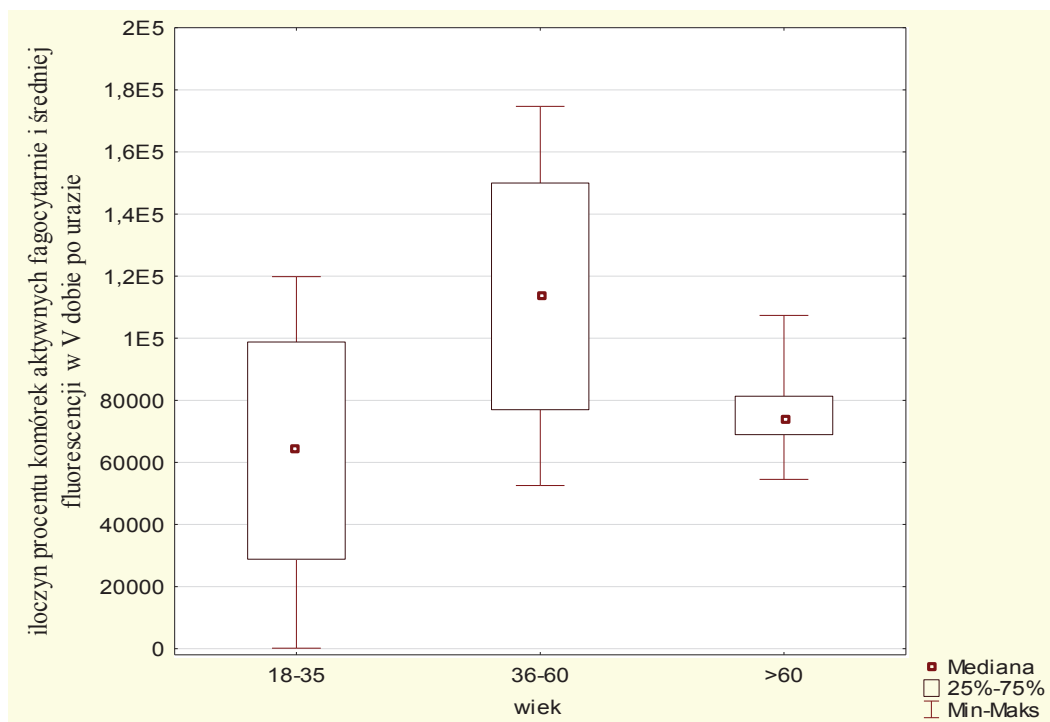
W grupie badanej nie stwierdzono zależności parametrów fagocytozy od płci. Wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości F% w pierwszej dobie po urazie w grupie chorych w wieku 18-35 lat oraz 36-60 lat, w porównaniu z grupą pacjentów w wieku >60 lat (wykres 46). FGm w V dobie po urazie była statystycznie znamienne niższa w grupie chorych w wieku 18-35 lat niż w grupie chorych w wieku 36-60 lat (wykres 47). Stwierdzono statystycznie znamienne wyższe wartości Filo w piątej dobie w grupie w wieku 36-60 lat w porównaniu do pacjentów zarówno młodszych, jak i starszych (wykres 48).



Wykres 46. Wartości procentu komórek aktywnych (F%) w grupie chorych z MOC w I dobie po urazie w poszczególnych przedziałach wiekowych



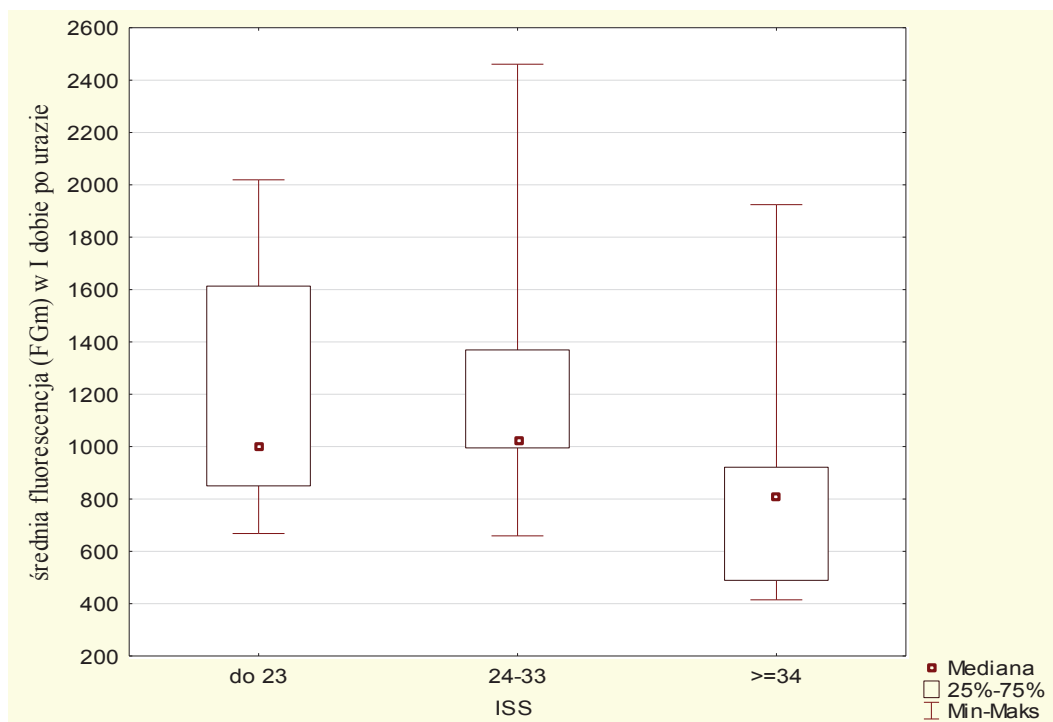
Wykres 47. Wartości średniej fluorescencji (FGm) w grupie chorych z MOC w V dobie po urazie w poszczególnych przedziałach wiekowych



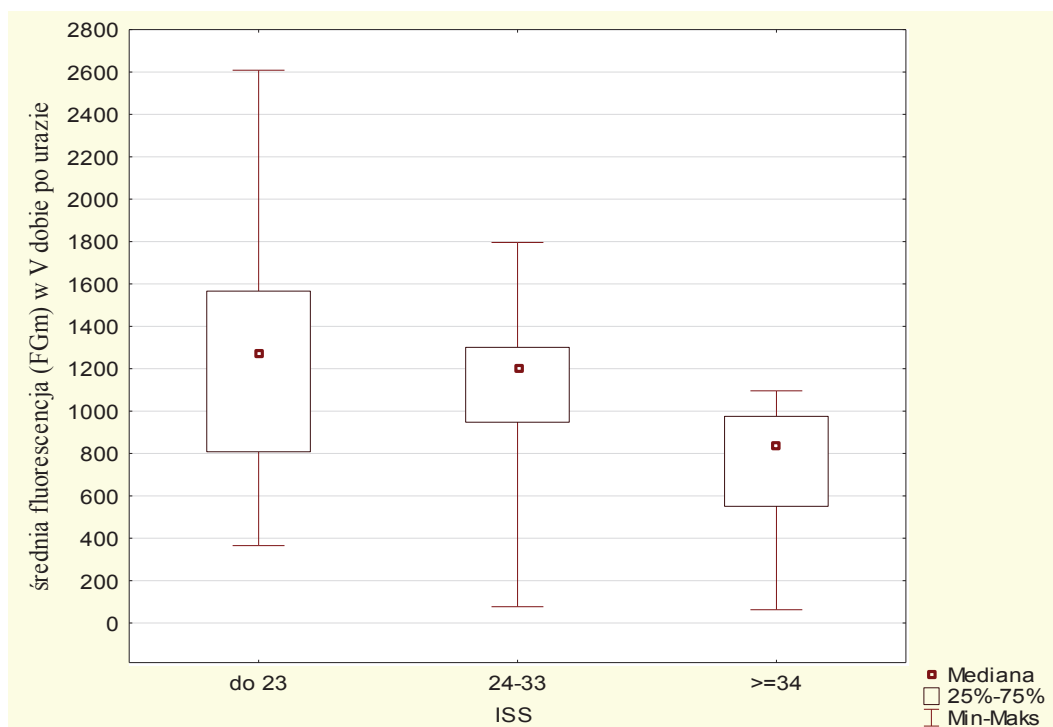
Wykres 48. Wartości iloczynu procentu komórek aktywnych i średniej fluorescencji odpowiadające całkowitej sprawności fagocytarnej (Filu) w grupie chorych z MOC w V dobie po urazie w poszczególnych przedziałach wiekowych

3.6. Zależność parametrów fagocytozy od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS

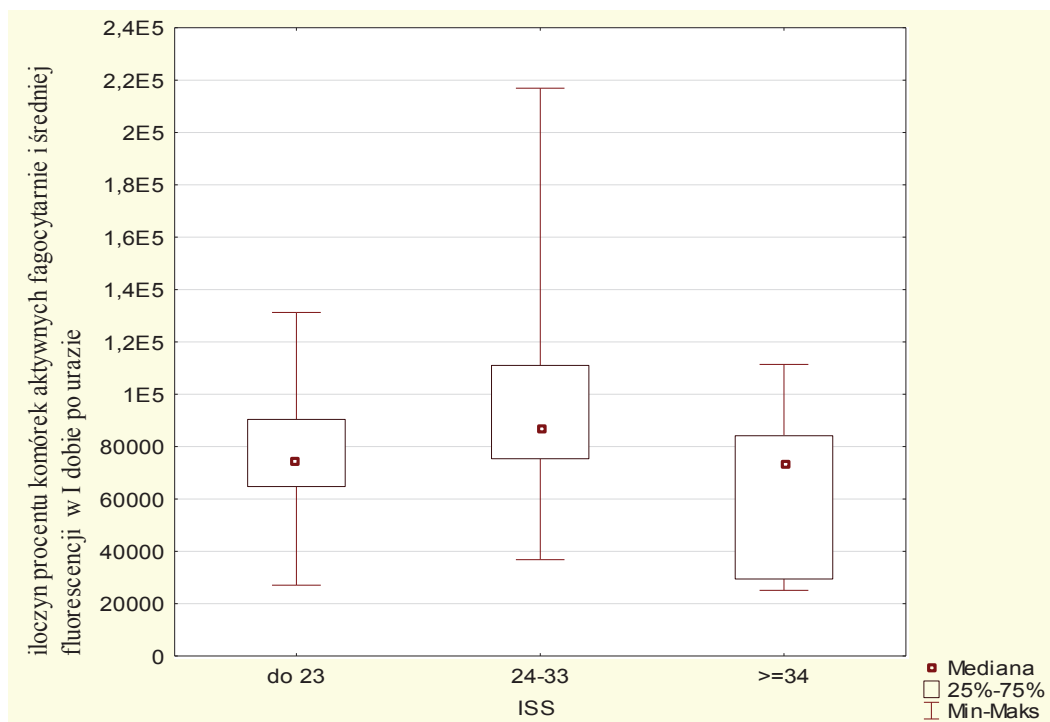
W celu zobrazowania różnic statystycznych grupę chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) podzielono na grupy w zależności od wartości ISS t.j. $ISS \leq 23$, $24 < ISS < 29$ oraz $ISS \geq 30$. Nie wykazano statystycznie znaczących różnic w zakresie F% w poszczególnych dobach w grupie badanej w zależności od wartości ISS. Wykazano statystycznie obniżenie wartości FGm w I i V dobie oraz Filu w I dobie po urazie u chorych ocenianych w ISS na >30 pkt. (wykresy 49-51). Nie wykazano zależności w/w parametrów od ISS w II dobie od urazu w Gb.



Wykres 49. Wartości średniej fluorescencji (FGm) w I dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości ISS



Wykres 50. Wartości średniej fluorescencji (FGm) w V dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości ISS

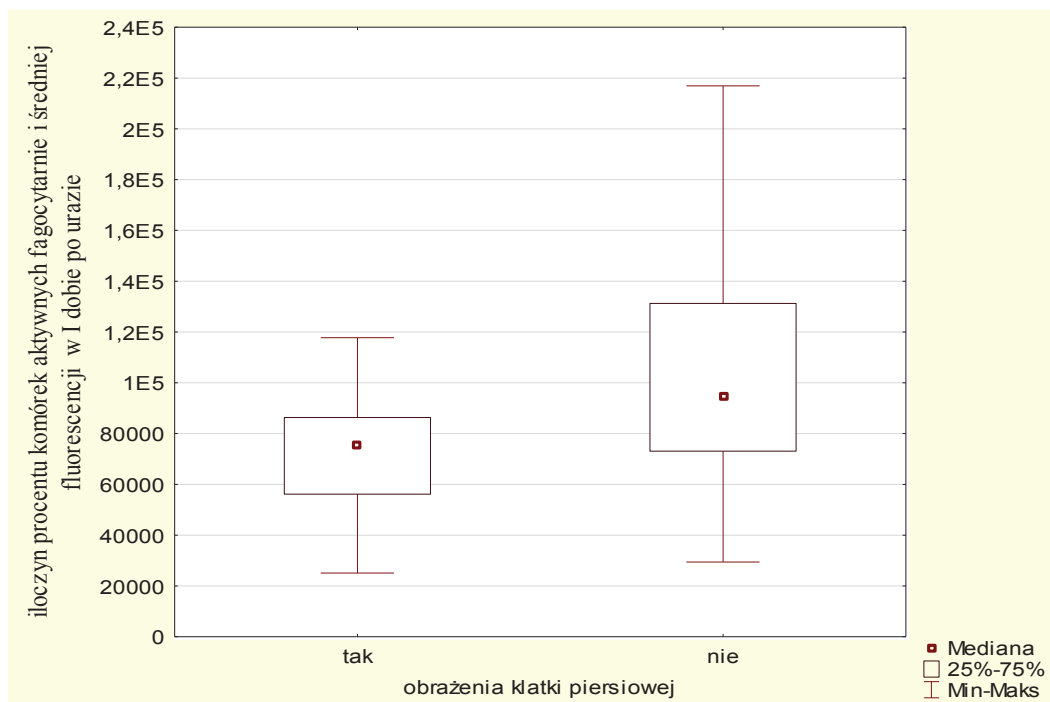


Wykres 51. Wartości iloczynu procentu komórek aktywnych i średniej fluorescencji odpowiadające całkowitej sprawności fagocytarnej (Filo) w I dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości ISS

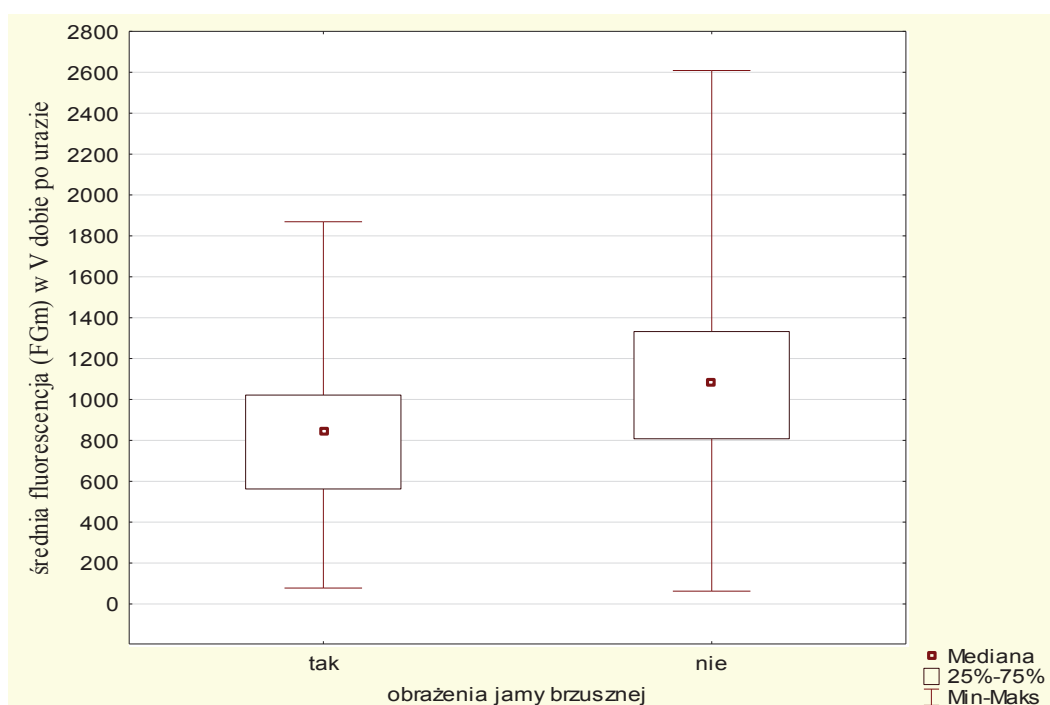
Nie stwierdzono również zależności statystycznych pomiędzy oceną w skalach GCS RTS chorych w grupie badanej (Gb) i badanymi parametrami fagocytozy.

3.7. Zależność badanych parametrów fagocytozy od lokalizacji obrażeń i występowania chorób współistniejących

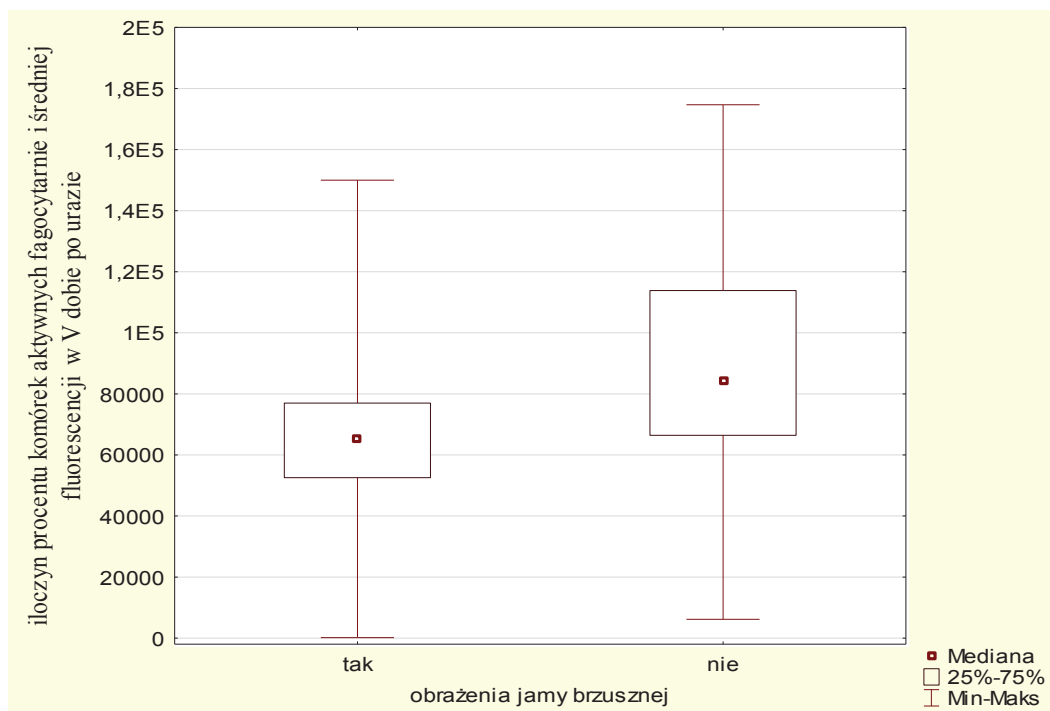
W grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) nie wykazano zależności badanych parametrów fagocytozy od obrażeń głowy i szyi oraz kończyn. Stwierdzono znamienne niższe wartości Filo w I dobie po urazie u chorych z obrażeniami klatki piersiowej (wykres 52). Wykazano również znamienne niższe wartości FGm i Filo w 5 dobie od urazu w grupie chorych z obrażeniami jamy brzusznej i miednicy (wykresy 53, 54). Pozostałe parametry w poszczególnych dobach nie wykazują znamiennej korelacji.



Wykres 52. Wartości iloczynu procentu komórek aktywnych i średniej fluorescencji odpowiadające całkowitej sprawności fagocytarnej (Filo) w I dobie po urazie u chorych z MOC w zależności od współwystępowania obrażeń klatki piersiowej

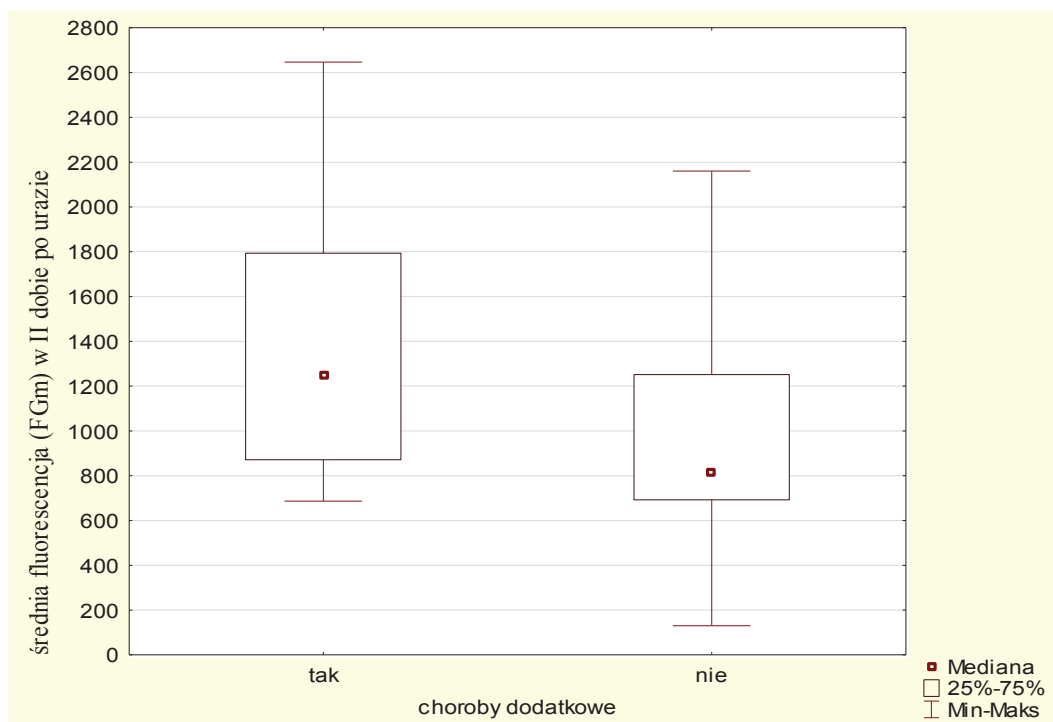


Wykres 53. Średnia fluorescencja (FGm) w V dobie po urazie u chorych z MOC w zależności od współwystępowania obrażeń jamy brzusznej

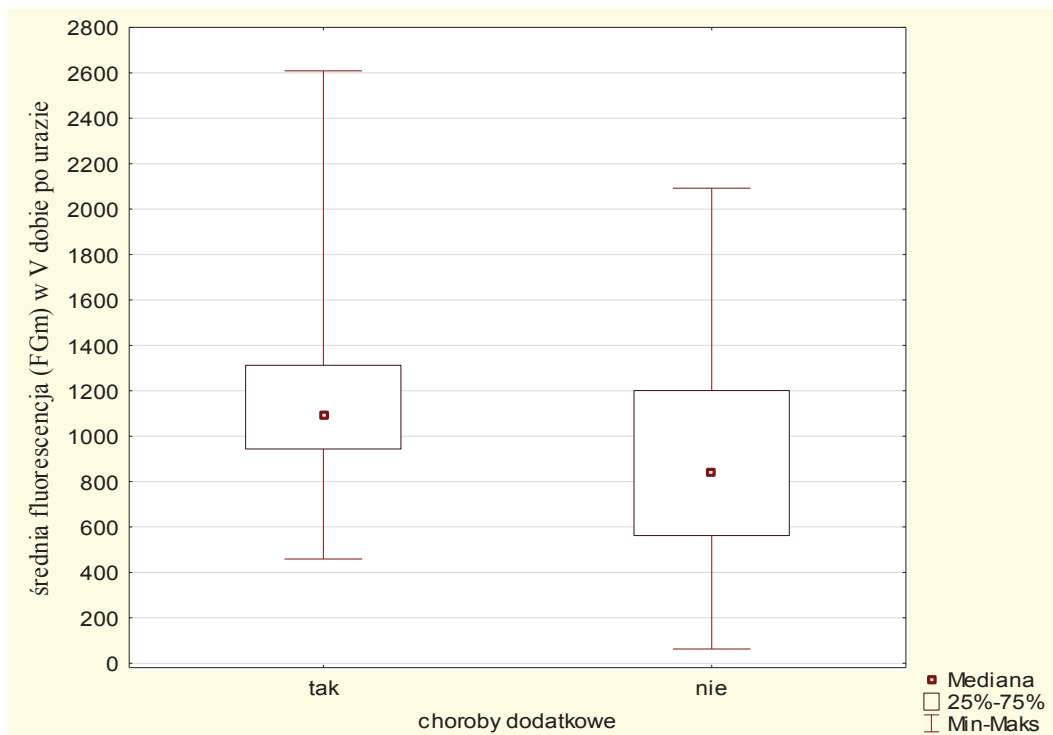


Wykres 54. Wartości iloczynu procentu komórek aktywnych i średniej fluorescencji odpowiadające całkowitej sprawności fagocytarnej (Filo) w V dobie po urazie u chorych z MOC w zależności od współwystępowania obrażeń jamy brzusznej

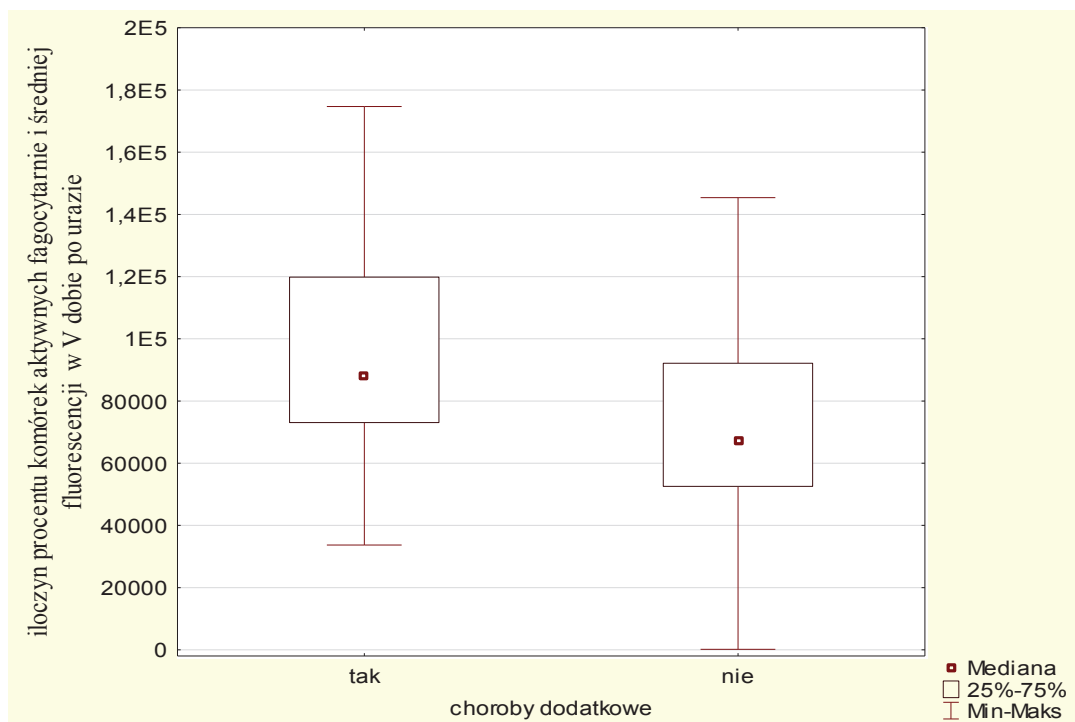
W grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) wykazano znamienne wyższe wartości FGm w 2 i 5 dobie i Filo w 5 dobie od urazu w grupie chorych, u których stwierdzono choroby dodatkowe – głównie choroby układu sercowo-naczyniowego, otyłość oraz alkoholizm (wykresy 55-57). Pozostałe parametry w poszczególnych dobach bez znamiennej korelacji.



Wykres 55. Średnia fluorescencja (FGm) w II dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych z obciążeniami w wywiadzie i bez chorób współistniejących



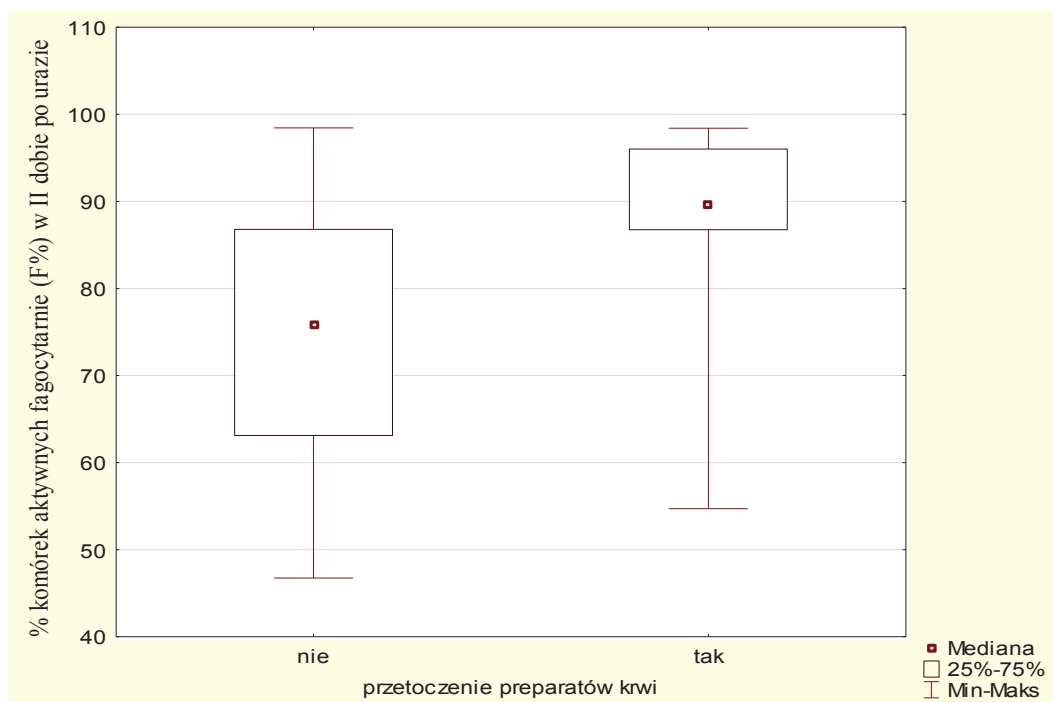
Wykres 56. Średnia fluorescencja (FGm) w V dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych z obciążeniami w wywiadzie i bez chorób współistniejących



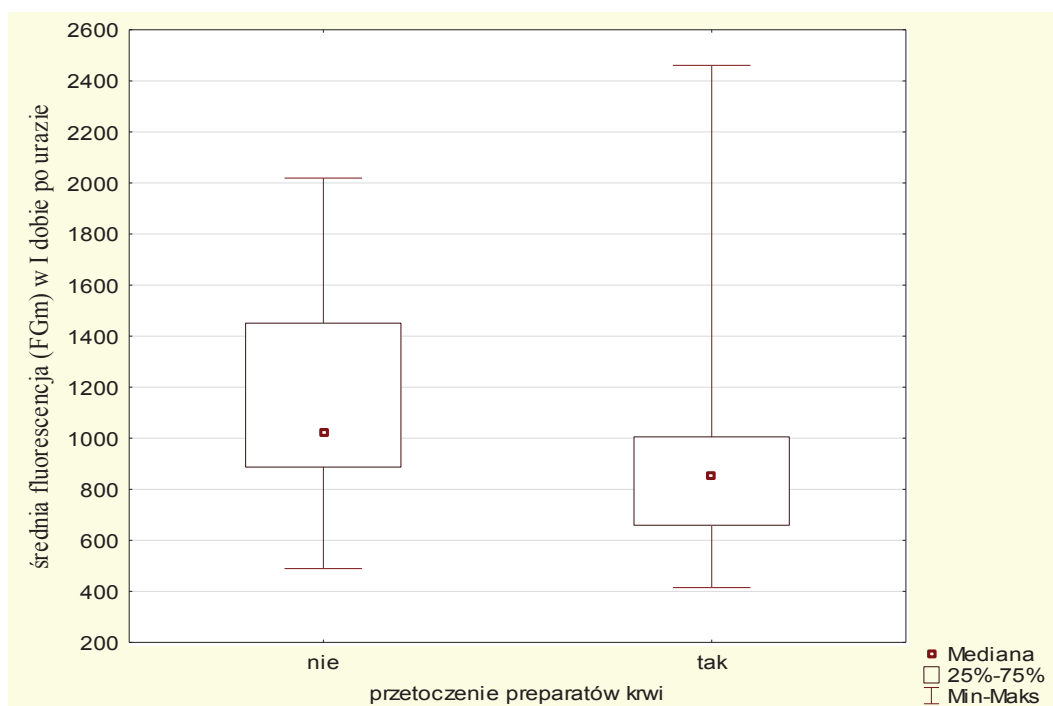
Wykres 57. Wartości iloczynu procentu komórek aktywnych i średniej fluorescencji odpowiadające całkowitej sprawności fagocytarnej (Filo) w V dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych z obciążeniami w wywiadzie i bez chorób współistniejących

3.8. Zależność badanych parametrów fagocytozy od postępowania leczniczego – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego

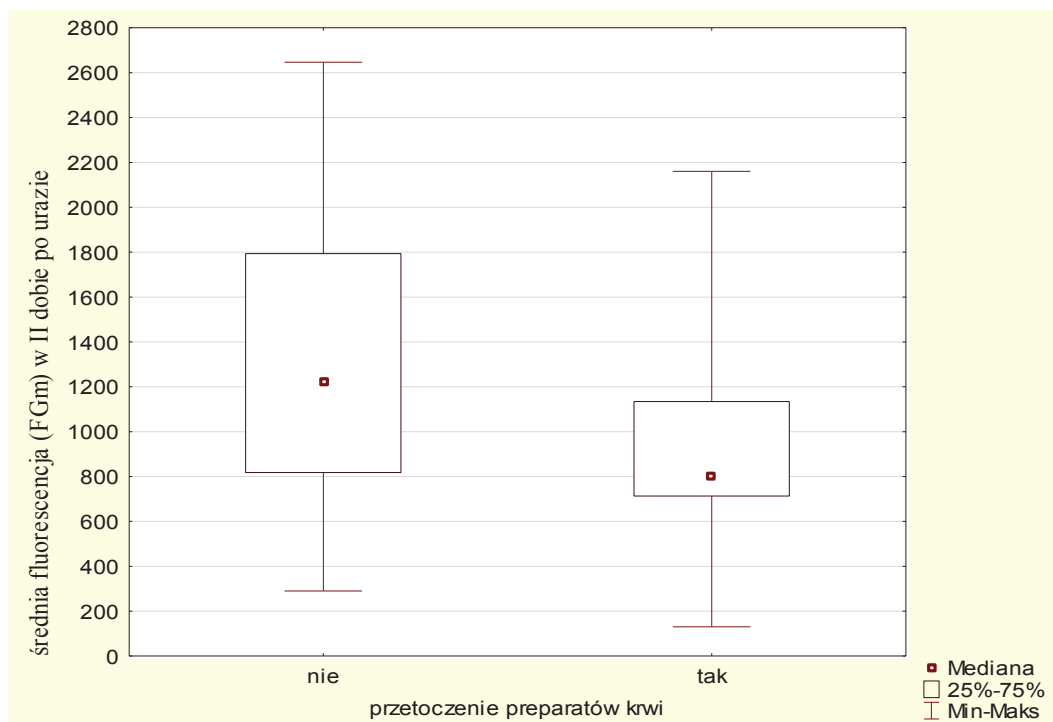
W grupie chorych z MOC (Gb) stwierdzono statystycznie wyższy odsetek komórek aktywnych (F%) w II dobie po urazie u pacjentów, u których stosowano przetoczenie preparatów krwi. Wartość F% w pozostałych dobach nie korelowała ze stosowaniem przetoczeń. W tej grupie wykazano również statystycznie niższą aktywność fagocytarną komórek żernych (FGm) w poszczególnych dobach w przypadku stosowania preparatów krwi. Filo był jednak statystycznie niższy jedynie w 5 dobie po urazie (wykresy 58-62).



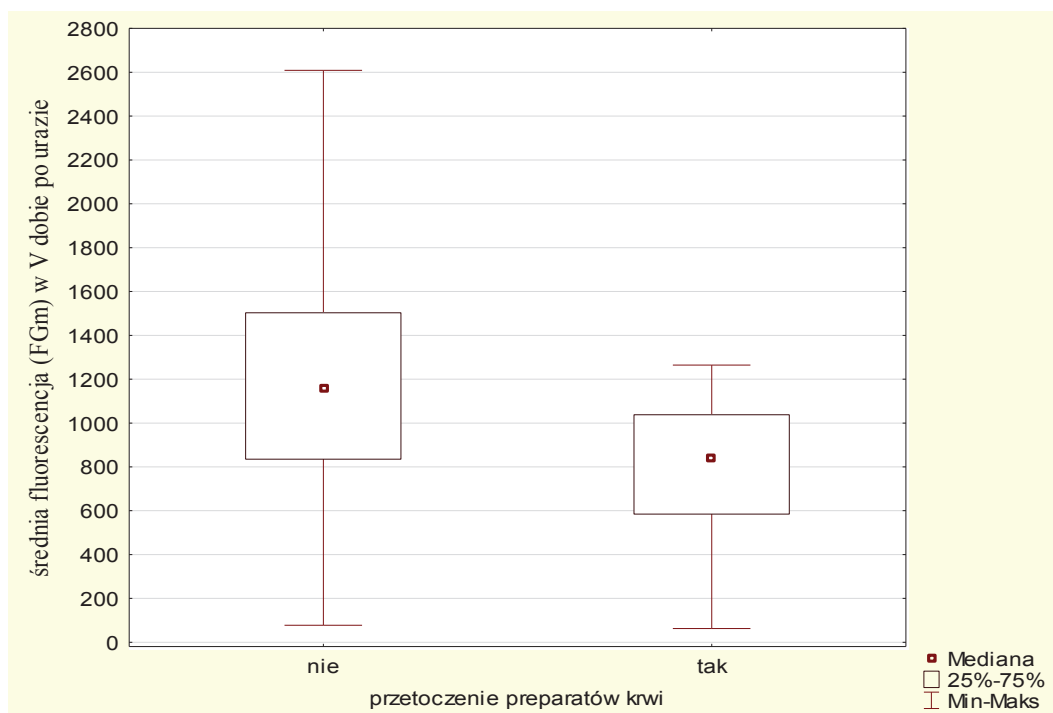
Wykres 58. Odsetek komórek aktywnych fagocytarnie (F%) w II dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych, u których stosowano preparaty krwi i nie wymagających przetoczeń



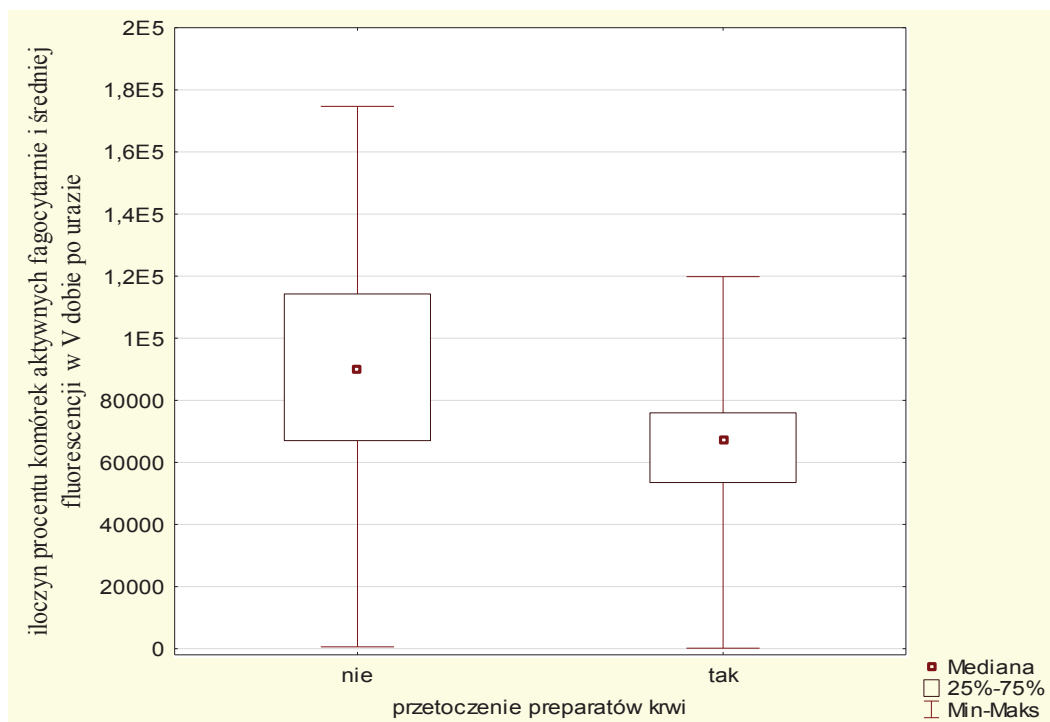
Wykres 59. Średnia fluorescencja (FGm) w I dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych, u których stosowano preparaty krwi i nie wymagających przetoczeń



Wykres 60. Średnia fluorescencja (FGm) w II dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych, u których stosowano preparaty krwi i nie wymagających przetoczeń



Wykres 61. Średnia fluorescencja (FGm) w V dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych, u których stosowano preparaty krwi i nie wymagających przetoczeń



Wykres 62. Wartości iloczynu odsetka komórek aktywnych i średniej fluorescencji odpowiadające całkowitej sprawności fagocytarnej (Filo) w V dobie po urazie u chorych z MOC w grupie chorych, u których stosowano preparaty krwi i nie wymagających przetoczeń

Nie stwierdzono również korelacji pomiędzy dobą przeprowadzenia pierwszego zabiegu operacyjnego, a badanymi parametrami fagocytozy w grupie badanej (Gb).

3.9. Korelacja pomiędzy wartością badanych parametrów fagocytozy, a występowaniem powikłań zakaźnych

W grupie badanej (Gb) nie wykazano statystycznie znamiennych zależności pomiędzy wartościami F%, FGm i Filo, a występowaniem powikłań zakaźnych.

4. Aktywność przeciwbakteryjna komórek żernych na podstawie analizy „wybuchu tlenowego”

4.1. Chorzy z mnogimi obrażeniami ciała (Gb)

Nasilenie „wybuchu tlenowego” we krwi wszystkich chorych jak również zdrowych ochotników oceniano za pomocą kilku parametrów – odsetka komórek aktywnych (B%), średniej fluorescencji (BGm) oraz iloczynu obu wartości (Bilo) odpowiadającego realnej aktywności „wybuchu tlenowego” w organizmie. Powyższe parametry oceniano w reakcji na żywe komórki bakterii *E.Coli*, słaby stymulator – FMLP (N-formylometionyloleucynylofenyloalanina – czynnik chemotaktyczny) oraz silny - PMA (octan mirystynianu forbolu – aktywator kinazy białkowej C) – odpowiednio: Bbak%, BbakGm, Bbakilo, Bfmlp%, BfmlpGm, Bfmlpilo, Bpma%, BpmaGm, Bpmailo.

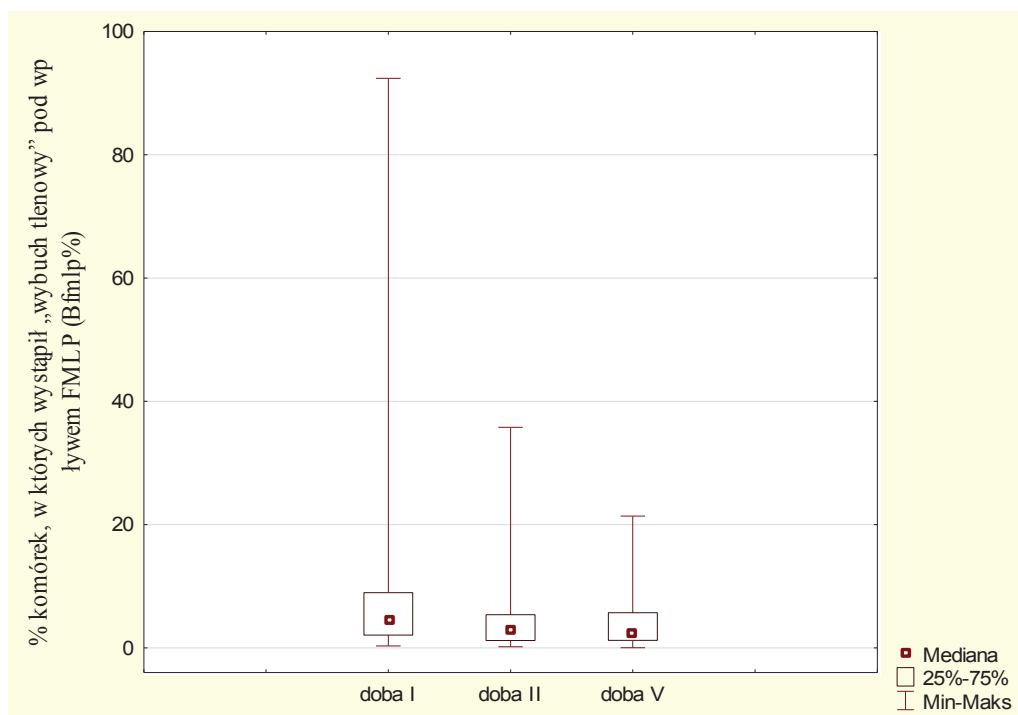
W tabeli 16 przedstawiono w/w parametry w grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) w poszczególnych dobach od urazu.

Tabela 16. Nasilenie „wybuchu tlenowego” komórek żernych w grupie badanej (Gb)

Parametr	Doba od urazu	I	II	V
	Dane			
Bbak%	Minimum	18,7	10,68	2,01
	Maksimum	96,6	99,99	98,35
	Średnia	57,99	64,66	60,87
	Odchylenie standardowe	23,45	22,47	25,17
	Mediana	55,71	68,92	61,93
BbakGm	Minimum	20,1	9,74	15,88
	Maksimum	703,36	2012,1	1299,4
	Średnia	193,99	284,46	195,35
	Odchylenie standardowe	169,42	370,46	219,93
	Mediana	163,85	154,99	145,97
Bbakilo	Minimum	1216,45	317,35	145,6
	Maksimum	51647,44	194409,10	50470,82
	Średnia	11249,37	18392,54	11890,97
	Odchylenie standardowe	11213,35	33712,44	12171,85
	Mediana	6456,33	7616,83	6545,58
Bfmlp%	Minimum	0,34	0,2	0,05
	Maksimum	92,41	35,8	21,4
	Średnia	9,71	5,08	4,42
	Odchylenie standardowe	19,57	6,54	5,33
	Mediana	4,335	3,11	2,35
BfmlpGm	Minimum	6,49	6,57	3,8
	Maksimum	265,78	293,69	314,1
	Średnia	72,73	56,05	60,04
	Odchylenie standardowe	80,95	56,53	68,42
	Mediana	42,7	45,1	33,57
Bfmlpilo	Minimum	4,984	2,39	2,76
	Maksimum	4113,17	1538,5	5892,52
	Średnia	706,32	284,91	265,39
	Odchylenie standardowe	1017,08	381,94	969,45
	Mediana	147,48	87,35	82,38
Bpma%	Minimum	47,66	18,08	4,37
	Maksimum	99,96	100	99,93
	Średnia	80,46	73,19	63,36
	Odchylenie standardowe	17,04	23,19	24,83
	Mediana	82,56	80,61	71,47
BpmaGm	Minimum	25,32	9,67	13,82
	Maksimum	1335,3	1713,1	1607,4
	Średnia	382,68	301,11	181,54
	Odchylenie standardowe	420,94	400,38	261,19
	Mediana	167,65	133,83	106,33
Bpmailo	Minimum	2114,73	227,42	349,9224
	Maksimum	117758	171310	55183,1
	Średnia	30789,29	22040,48	11502,47
	Odchylenie standardowe	35790,98	34819,78	12981,49
	Mediana	14840,92	9031,408	6795,287

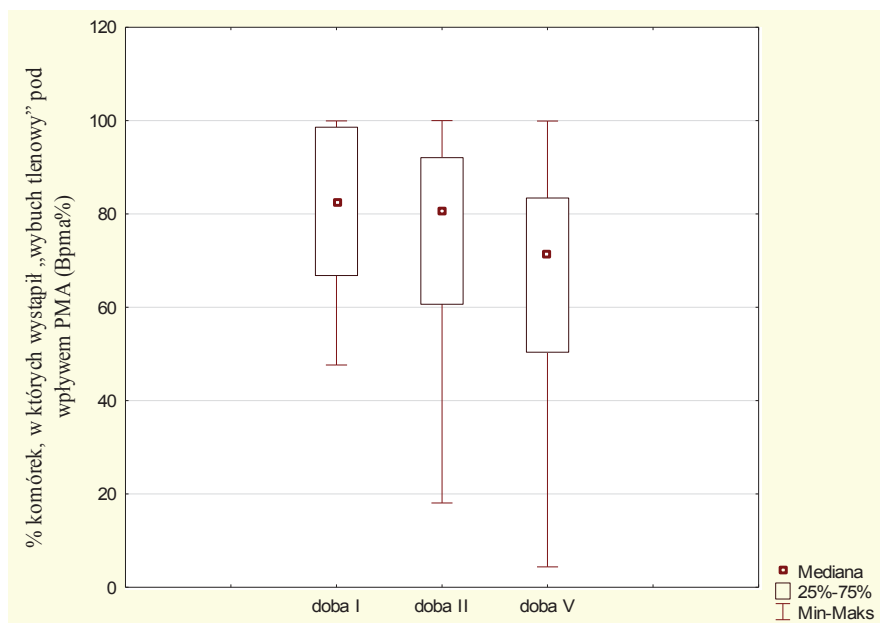
Nie wykazano statystycznie znamienych różnic pomiędzy wartościami Bbak% i BbakGm i Bbakilo w poszczególnych dobach od urazu.

Stwierdzono znamienne wyższe wartości Bfmlp% w I dobie po urazie. Brak różnic w wartości Bfmlp% w pomiędzy oraz II i V dobą (wykres 63). Nie wykazano statystycznie znamienych różnic pomiędzy wartościami BfmlpGm i Bfmlpilo w poszczególnych dobach od urazu.



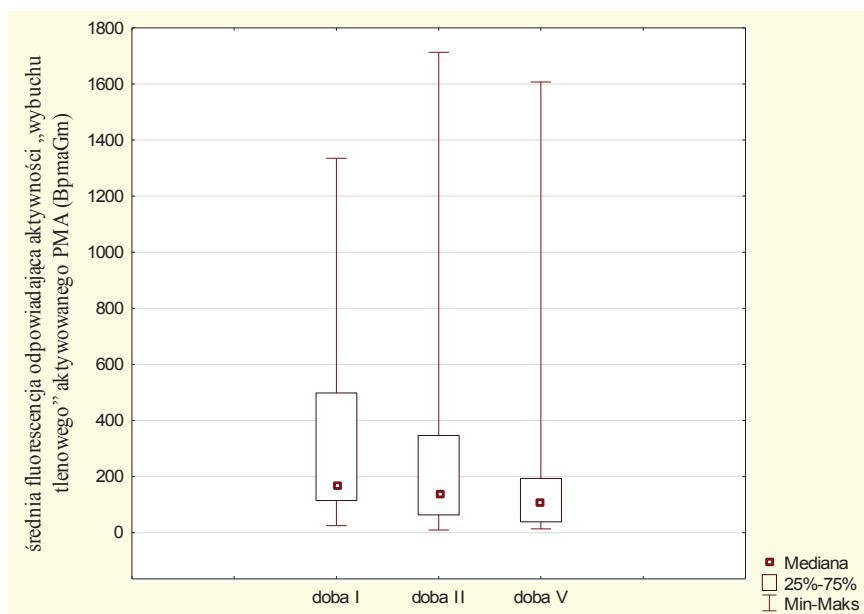
Wykres 63. Odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na FMLP - N-formylometionyleucynylofenyloalaninę (Bfmlp%) w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb)

Stwierdzono znamienne niższe wartości Bpma% w V dobie po urazie (wykres 64).



Wykres 64. Odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na PMA - octan mirystynianu forbolu (Bpma%) w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb)

Analogiczne różnice wykazano pomiędzy wartością BpmaGm w I i V oraz II i V dobie po urazie (wykres 65). Brak różnic w wartości BpmaGm w pomiędzy oraz I i II dobą.



Wykres 65. Średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na PMA (BpmaGm) w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z MOC (Gb)

Nie stwierdzono zmienności dobowej w wartości Bpmailo w grupie badanej.

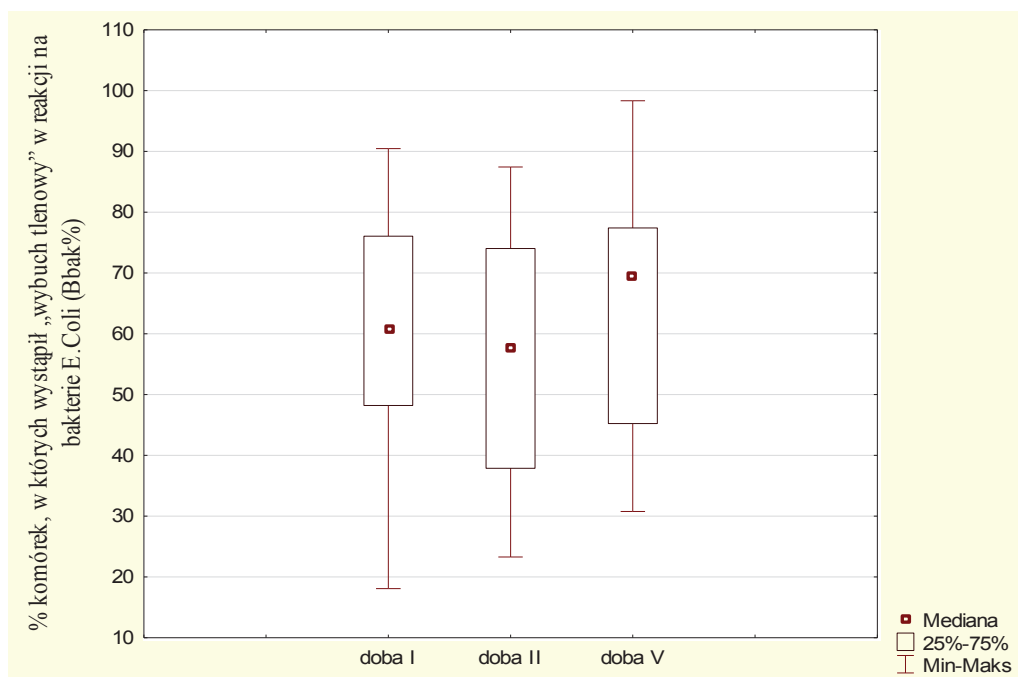
4.2. Grupa kontrolna chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2).

W tabeli 17 przedstawiono parametry „wybuchu tlenowego” w grupie kontrolnej zdrowych ochotników (G2).

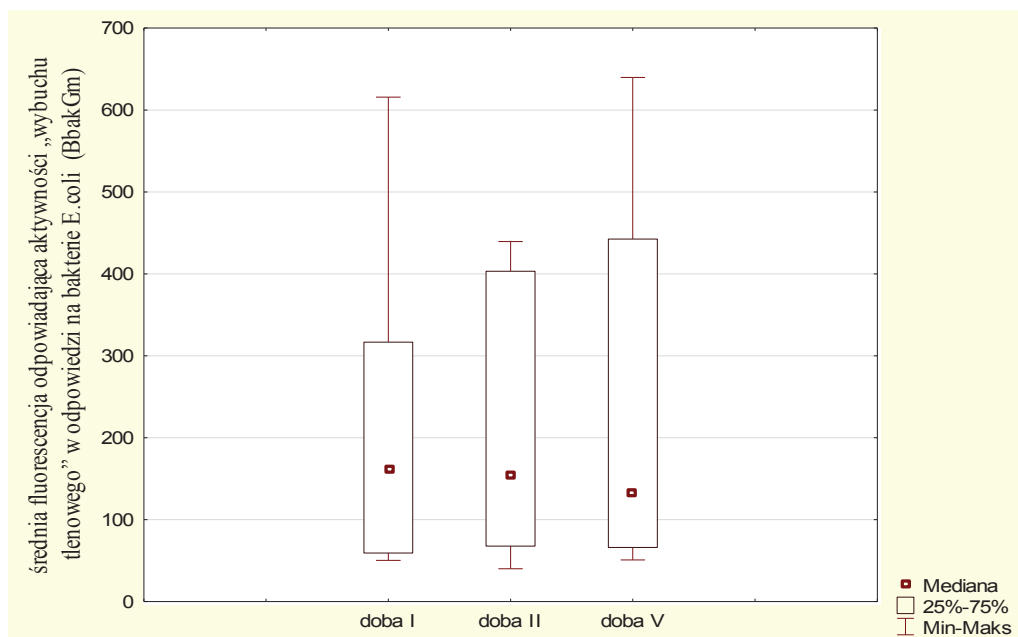
Tabela 17. Nasilenie „wybuchu tlenowego” komórek żernych w grupie kontrolnej (G2)

Parametr	Doba od urazu Dane	I	II	V
	Mediana	60,96	57,63	69,34
	Średnia	60,13	56,01	64,18
	Odchylenie standardowe	19,89	21,04	18,74
	Minimum	18,09	23,3	30,78
	Maksimum	90,47	87,45	98,35
BbakGm	Mediana	163,29	155,07	133,42
	Średnia	215,02	219,36	238,28
	Odchylenie standardowe	183,87	160,38	203,14
	Minimum	50,32	40,2	50,93
	Maksimum	615,82	439,52	639,84
	Mediana	9910,44	11261,88	8476,27
	Średnia	13330,28	13847,65	16150,91
	Odchylenie standardowe	13171,29	12425,46	15926,2
	Minimum	1048,88	936,66	2586,97
	Maksimum	55713,24	37712,81	50310,62
	Mediana	3,9	6,11	8,05
	Średnia	13,67	7,33	10,47
	Odchylenie standardowe	27,24	5,21	7,87
	Minimum	1,24	0,29	0,79
	Maksimum	93,11	17,45	34,7
	Mediana	42,48	61,95	59,91
	Średnia	57,47	78,72	106,16
	Odchylenie standardowe	36,11	51,72	88,32
	Minimum	26,45	26,46	22,11
Bfmlpilo	Mediana	180,31	404,95	448,62
	Średnia	637,26	553,84	965,82
	Odchylenie standardowe	1172,13	735,51	946,41
	Minimum	70,09	42,31	211,05
	Maksimum	4113,17	3465,05	2791,75
Bpma%	Mediana	56,58	58,84	78,54
	Średnia	61,29	58,62	71,12
	Odchylenie standardowe	18,91	21,56	19,28
	Minimum	26,46	19,6	14,46
	Maksimum	91,48	91,45	99,56
BpmaGm	Mediana	272,05	225,11	184,16
	Średnia	295,19	286,83	249,45
	Odchylenie standardowe	224,97	222,58	207,61
	Minimum	49,65	58,97	68,96
	Maksimum	798,14	736,26	798,56
Bpmailo	Mediana	19095,42	13353,37	10924,39
	Średnia	18387,83	17114,25	17694,41
	Odchylenie standardowe	15769,72	15040,08	16513,92
	Minimum	2374,34	1241,95	2459,21
	Maksimum	67418,89	47475,35	65841,27

W grupie kontrolnej chorych z obrażeniami pojedynczymi stwierdzono statystycznie znamienne różnice pomiędzy wartościami Bbak% i BbakGm w poszczególnych dobach od urazu – najniższe w II dobie, najwyższe w V (wykresy 66, 67). Nie stwierdzono statystycznie znamiennych różnic pomiędzy wartościami pozostałych badanych parametrów „wybuchu tlenowego” w poszczególnych dobach od urazu.



Wykres 66. Odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (Bbak%) w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2)



Wykres 67. Średnia fuorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (BbakGm) w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2)

4.3. Grupa kontrolna zdrowych ochotników (G1)

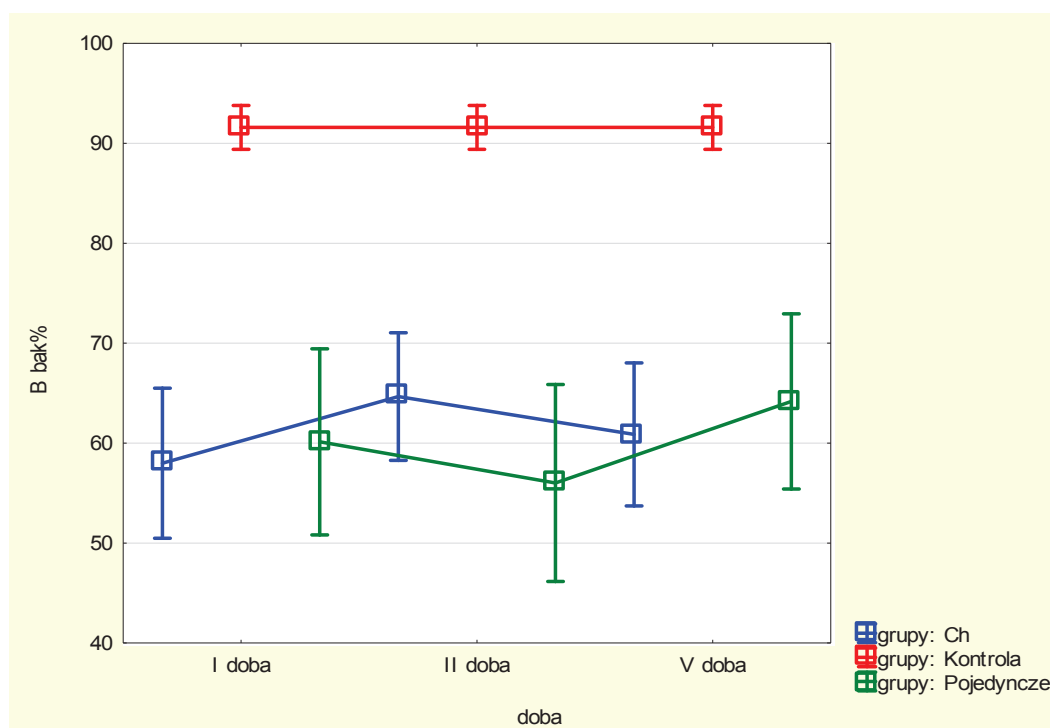
W tabeli 18 przedstawiono parametry „wybuchu tlenowego” w jednorazowym pomiarze w grupie zdrowych ochotników (G1).

Tabela 18. Aktywność „wybuchu tlenowego” komórek żernych w grupie kontrolnej ochotników bez urazu (G1)

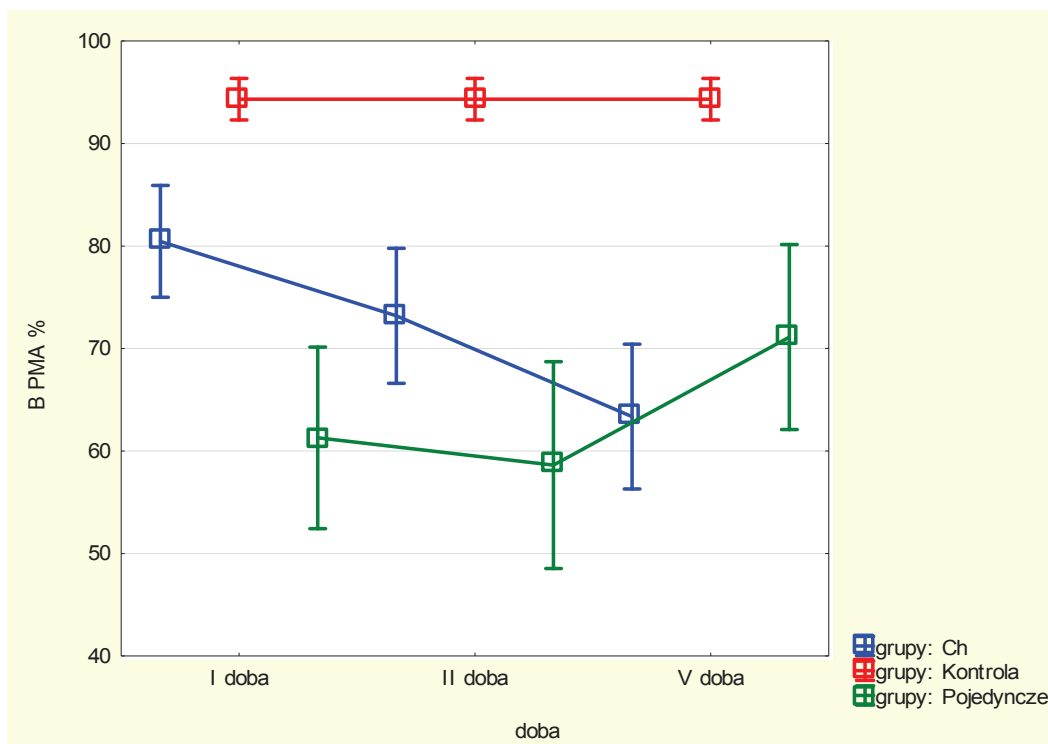
Parametr	Dane	Wartość
Bbak%	Mediana	91,06
	Średnia	91,59
	Odchylenie standardowe	4,70
	Minimum	83,57
	Maksimum	99,84
BbakGm	Mediana	345,5
	Średnia	368,08
	Odchylenie standardowe	203,12
	Minimum	63,14
	Maksimum	689,13
Bbakilo	Mediana	31462,96
	Średnia	33713,41
	Odchylenie standardowe	954,37
	Minimum	5480,55
	Maksimum	68471,96
Bfmlp%	Mediana	4,16
	Średnia	6,1
	Odchylenie standardowe	4,97
	Minimum	1,25
	Maksimum	19,68
BfmlpGm	Mediana	33,09
	Średnia	41,67
	Odchylenie standardowe	33,43
	Minimum	9,95
	Maksimum	148,2
Bfmlpilo	Mediana	137,67
	Średnia	254,21
	Odchylenie standardowe	166,12
	Minimum	36,62
	Maksimum	790,09
Bpma%	Mediana	93,64
	Średnia	94,32
	Odchylenie standardowe	4,33
	Minimum	86
	Maksimum	100
BpmaGm	Mediana	737,43
	Średnia	732,41
	Odchylenie standardowe	326,82
	Minimum	147,15
	Maksimum	1373
Bpmailo	Mediana	69052,94
	Średnia	69082,95
	Odchylenie standardowe	1413,59
	Minimum	13115,48
	Maksimum	136700

4.4. Porównanie między grupą badaną i grupami kontrolnymi

Wykazano statystycznie znamienne niższe wartości Bbak% i Bpma% w poszczególnych dobach w grupie badanej (Gb) i grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) w porównaniu z grupą zdrowych ochotników (G1). Nie wykazano takiej różnicy dla Bfmlp%. Stwierdzono wyższe wartości Bpma% w I i II dobie po urazie w grupie badanej (Gb), w porównaniu z grupą kontrolną chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2). Nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic wartości Bbak% pomiędzy grupą Gb i G2 (wykresy 68, 69).

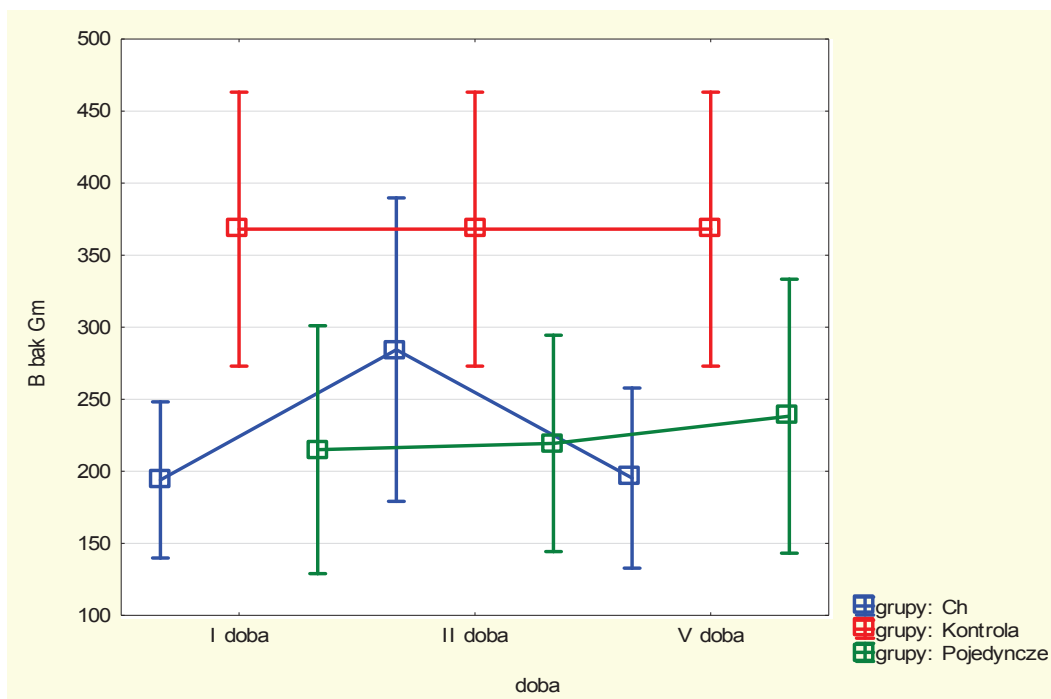


Wykres 68. Odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (Bbak%) w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i w grupach kontrolnych

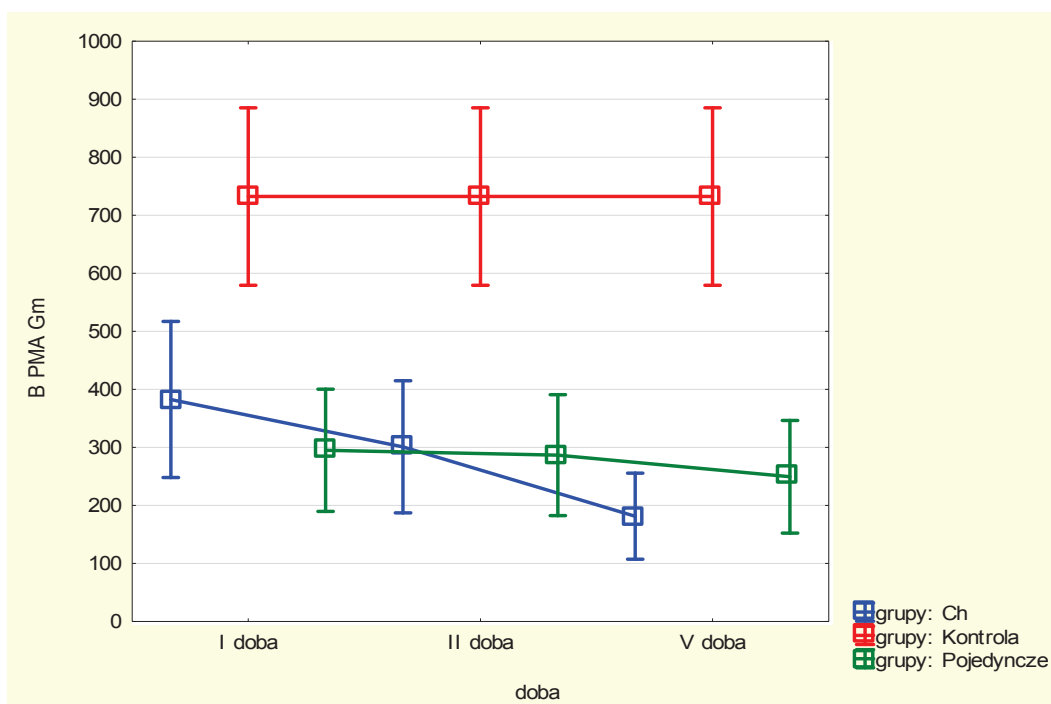


Wykres 69. Odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na PMA (Bpma%) w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i w grupach kontrolnych

Wykazano statystycznie znamienne niższe wartości BbakGm i BpmaGm w poszczególnych dobach w grupie badanej (Gb) i grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) w porównaniu do grupy zdrowych ochotników. Nie wykazano takiej różnicy dla BfmlpGm. Stwierdzono niższe wartości BpmaGm w V dobie po urazie w grupie badanej (Gb) niż w grupie kontrolnej chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2). Nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic wartości BbakGm pomiędzy grupą Gb i G2 (wykres 70,71).

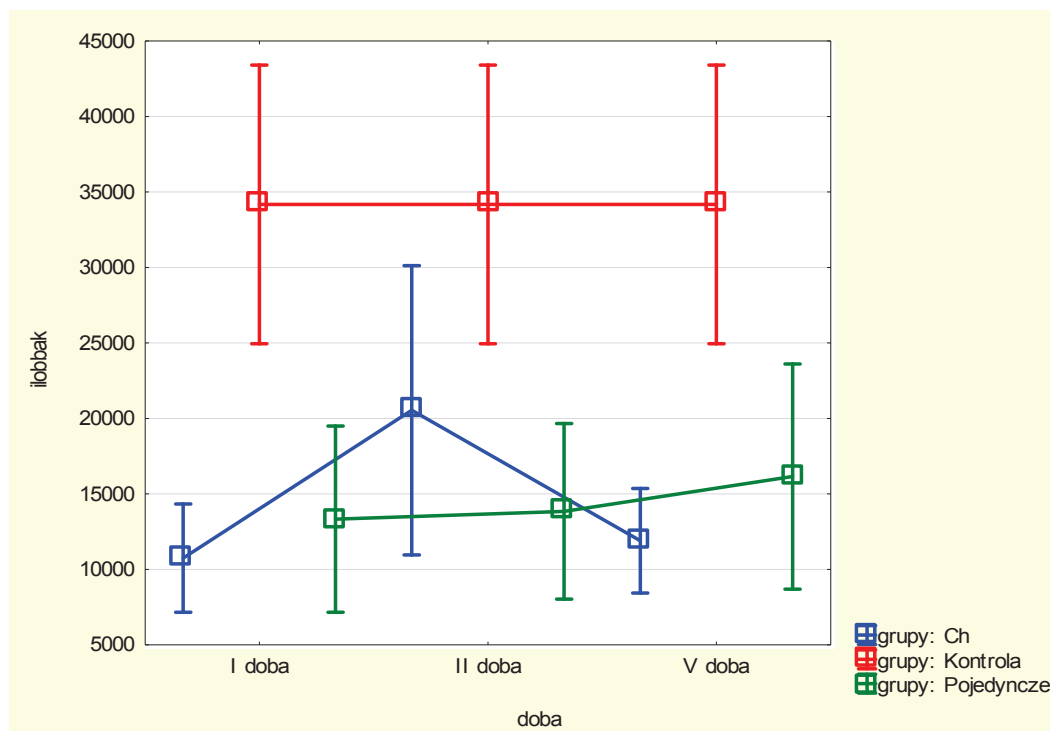


Wykres 70. Średnia fulorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (BbakGm) w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i w grupach kontrolnych

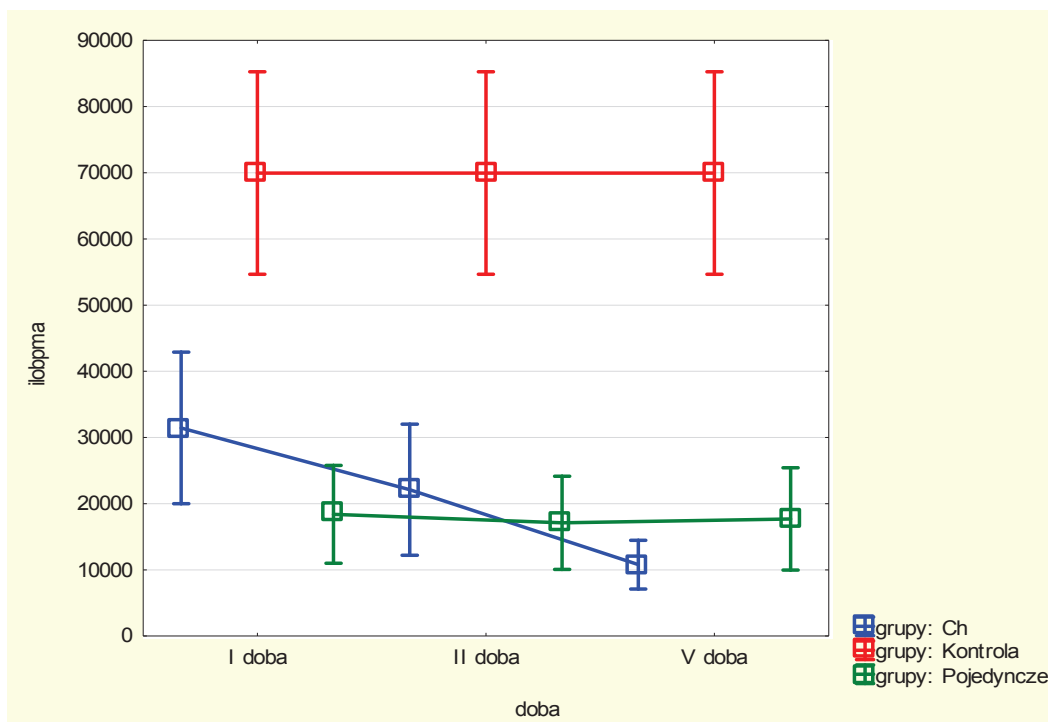


Wykres 71. Średnia fulorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na PMA (BpmaGm) w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i w grupach kontrolnych

Stwierdzono statystycznie znamienne niższe wartości Bbakilo i Bpmailo w poszczególnych dobach w grupie badanej (Gb) i grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) w porównaniu do grupy zdrowych ochotników. Nie wykazano takiej różnicy dla Bfmlpilo. Wykazano niższe wartości BpmaGm w V dobie po urazie w grupie badanej (Gb) niż w grupie kontrolnej chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2). Nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic wartości Bbakilo pomiędzy grupą Gb i G2 (wykresy 72,73).



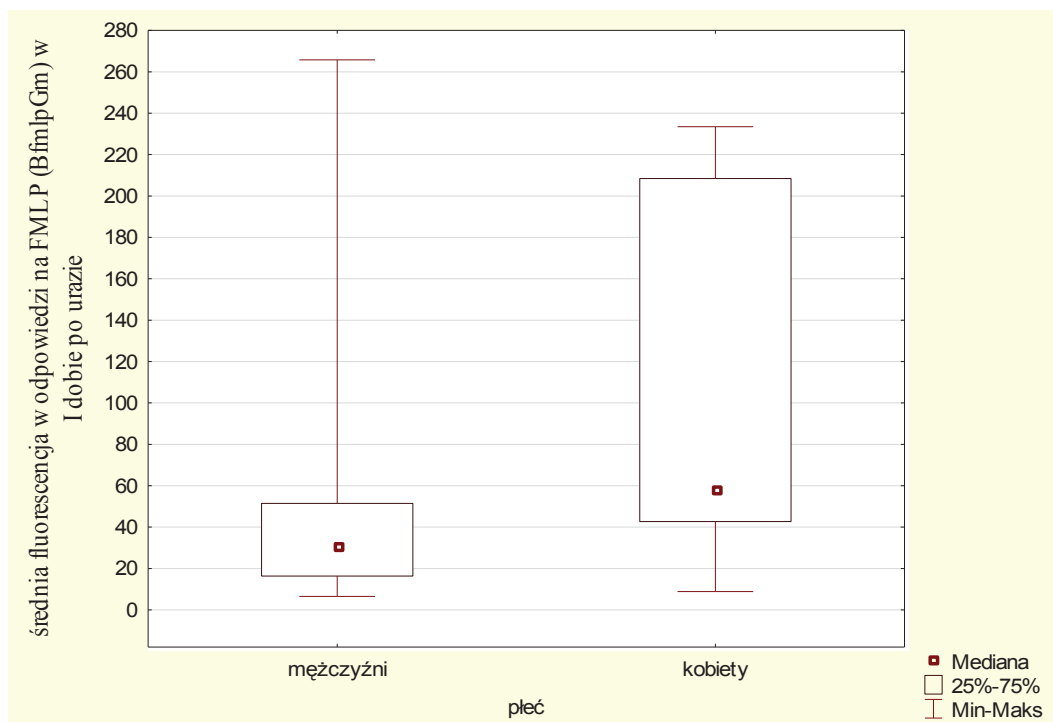
Wykres 72. Wartości iloczynu procentu komórek aktywnych i średniej fluorescencji w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (Bbakilo) odpowiadające całkowitej sprawności „wybuchu tlenowego” w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i w grupach kontrolnych.



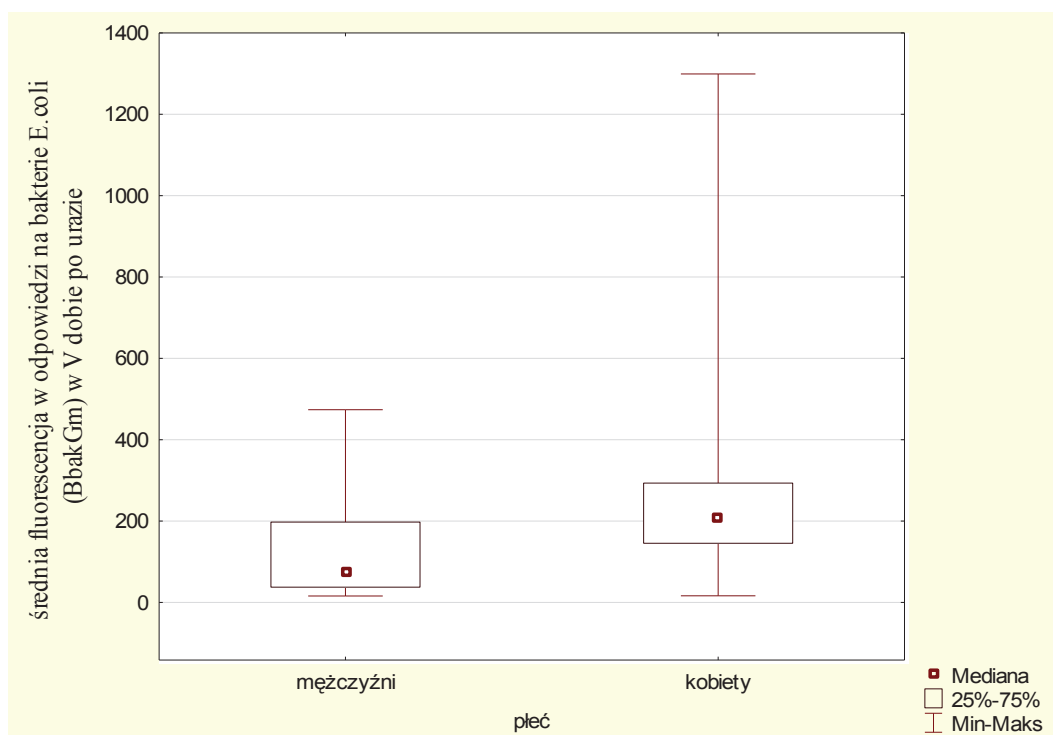
Wykres 73. Wartości iloczynu procentu komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na PMA (Bpmailo) w poszczególnych dobach po urazie w grupie badanej i w grupach kontrolnych

4.5. Aktywność „wybuchu tlenowego” w zależności od płci i wieku

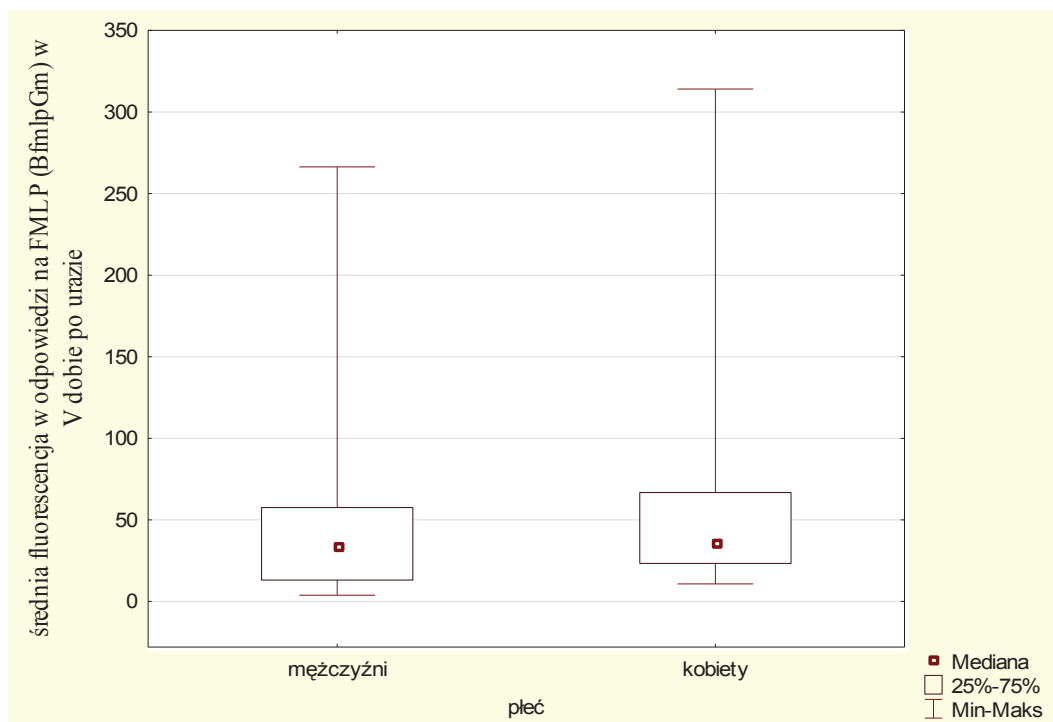
W grupie badanej stwierdzono statystycznie znamienne wyższe wartości BfmlpGm w I dobie po urazie oraz BbakGm, BfmlpGm i BpmaGm w V dobie po urazie w grupie chorych płci żeńskiej (wykresy 74-77). Nie wykazano takiej zależności w pozostałych dobach po urazie.



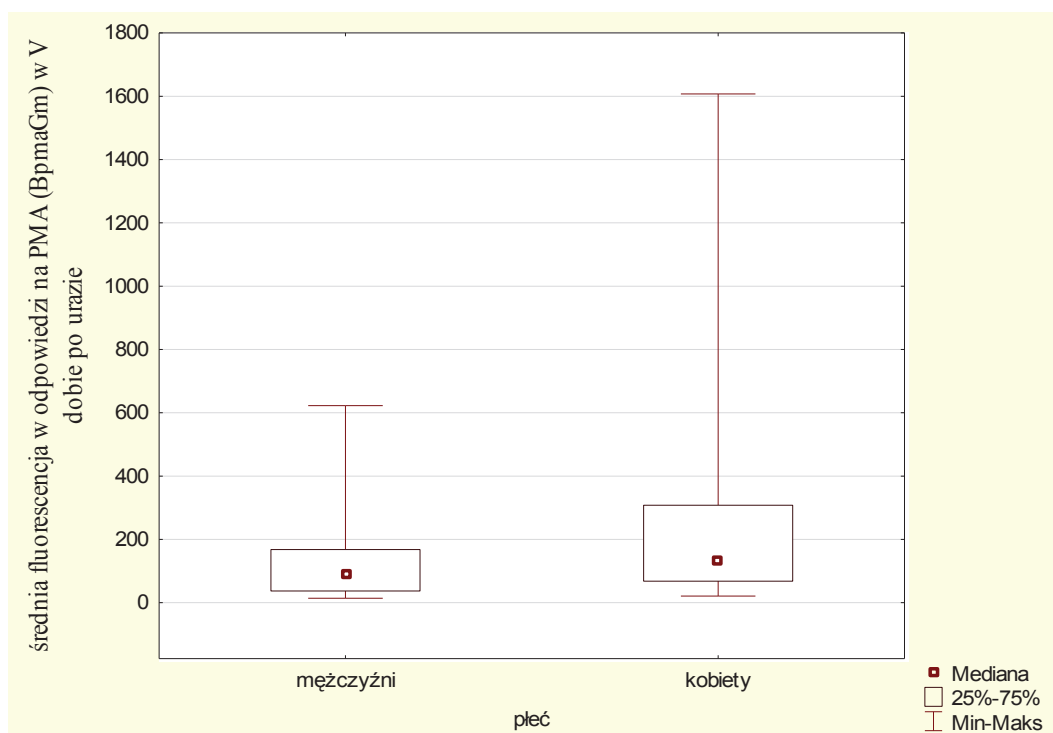
Wykres 74. Średnia fulorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na FMLP (BfmIpilo) w grupie chorych z obrażeniami mnogimi w I dobie w zależności od płci



Wykres 75. Średnia fulorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (BbakGm) w grupie chorych z MOC w V dobie w zależności od płci

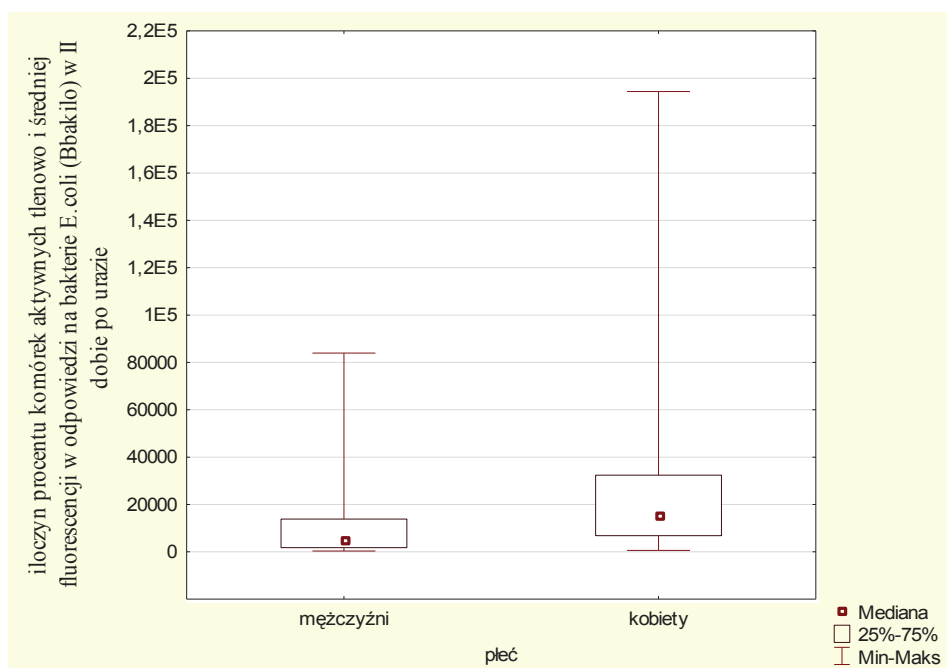


Wykres 76. Średnia fultescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na FMLP (BfmIpGm) w grupie chorych z MOC w 5. dobie w zależności od płci

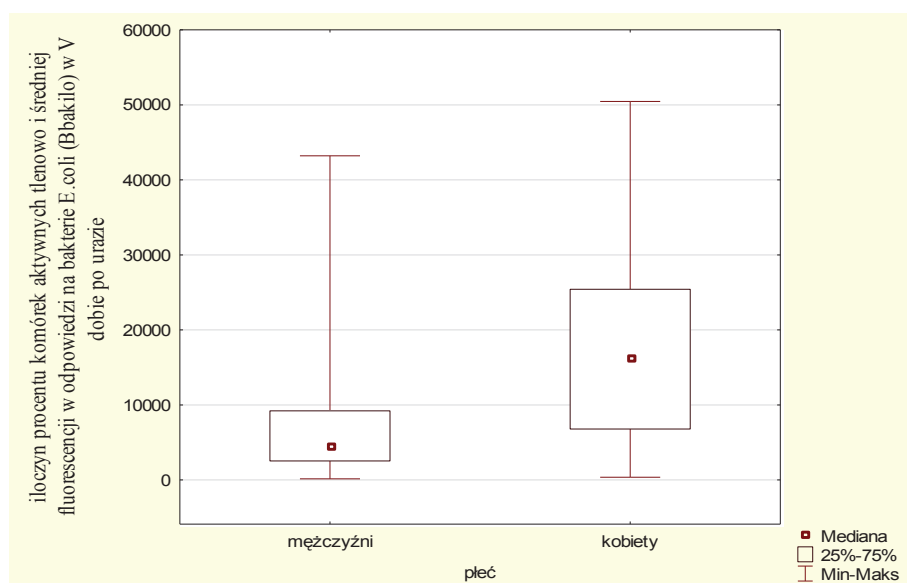


Wykres 77. Średnia fultescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na PMA (BpmaGm) w grupie chorych z obrażeniami mnogimi w 5. dobie w zależności od płci

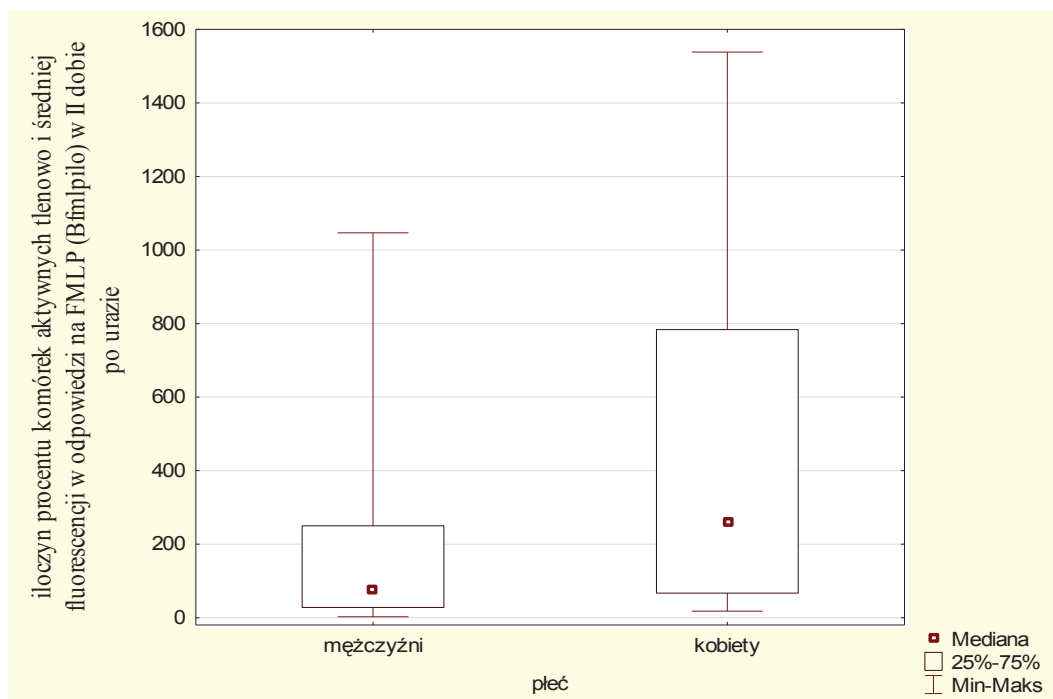
Wykazano również statystycznie znamienne wyższe wartości Bbakilo i Bpmailo w II i V dobie po urazie oraz Bfmlpilo w II dobie w grupie chorych płci żeńskiej (wykresy 78-82).



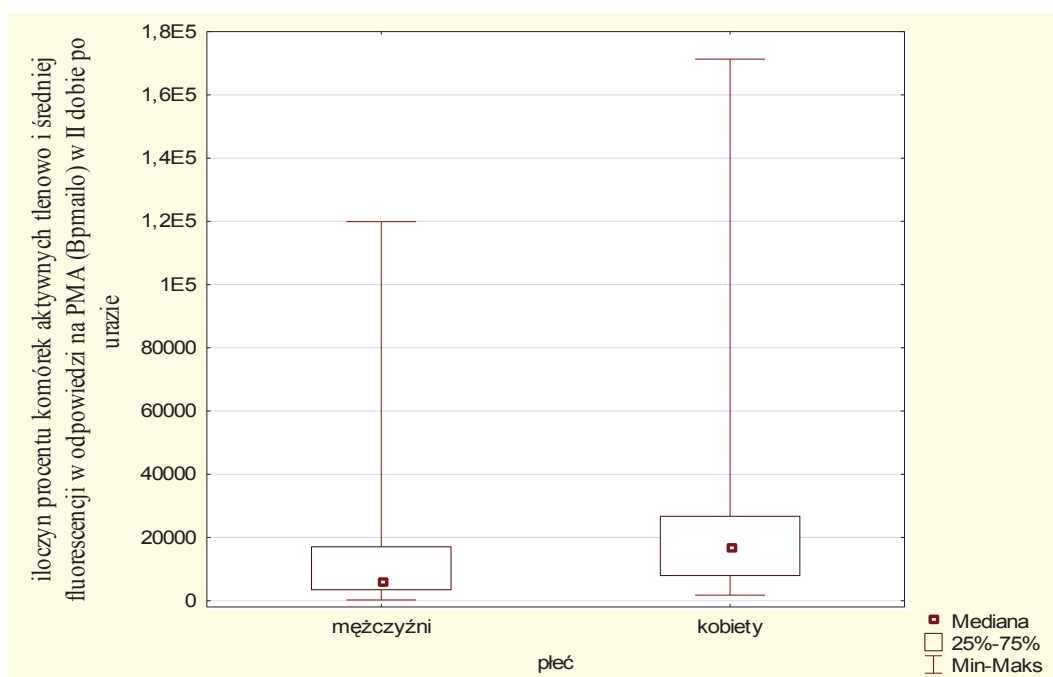
Wykres 78. Wartości iloczynu odsetka komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (Bbakilo) w grupie chorych z MOC w II dobie w zależności od płci



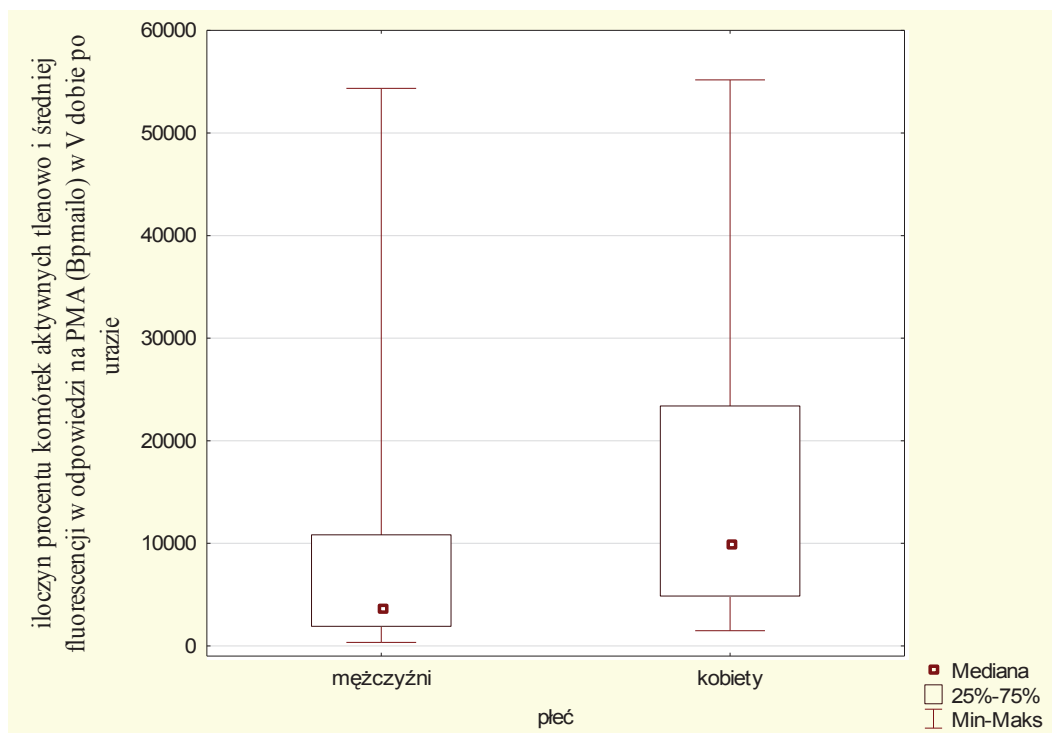
Wykres 79. Wartości iloczynu procentu komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (Bbakilo) w grupie chorych z MOC w V dobie w zależności od płci



Wykres 80. Wartości iloczynu odsetka komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na FMLP (Bfmplpilo) w grupie chorych z MOC w II dobie w zależności od płci

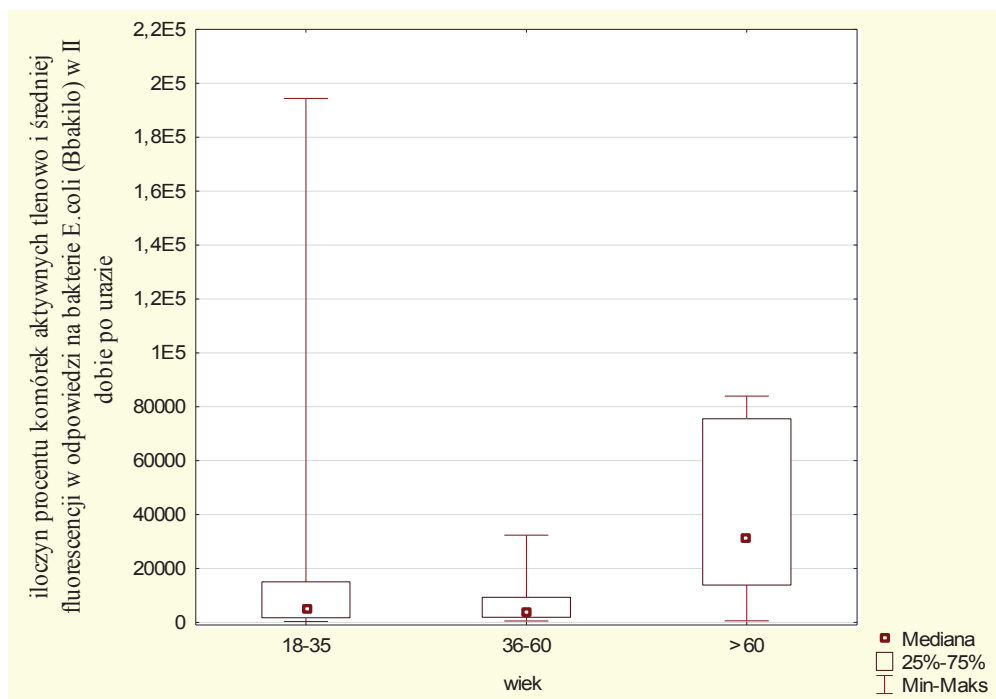


Wykres 81. Wartości iloczynu odsetka komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na PMA (Bpmailo) w grupie chorych z MOC w II dobie w zależności od płci

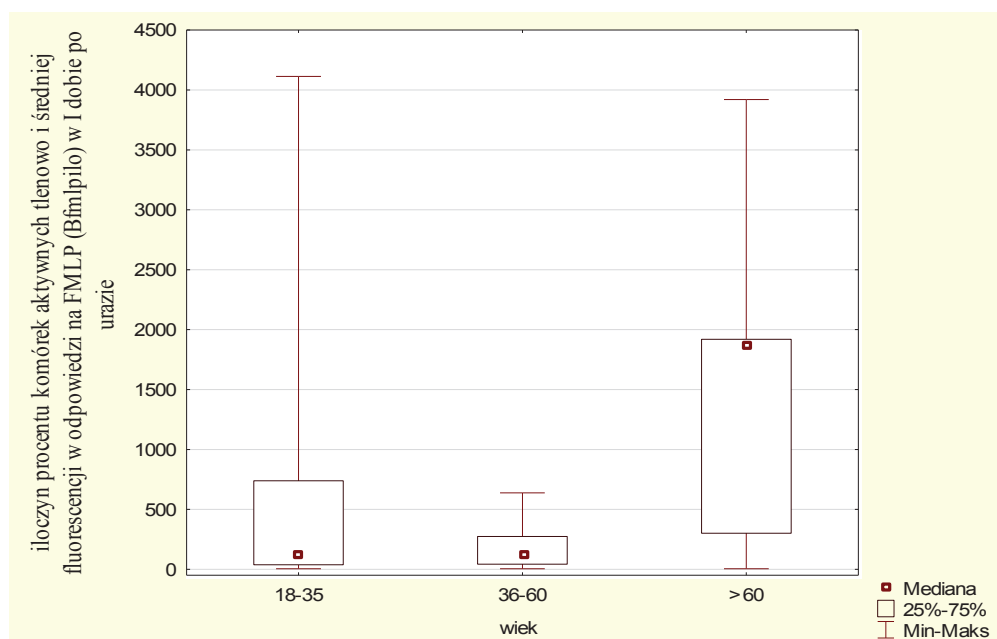


Wykres 82. Wartości iloczynu odsetka komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na PMA (Bpmailo) w grupie chorych z MOC w V dobie w zależności od płci

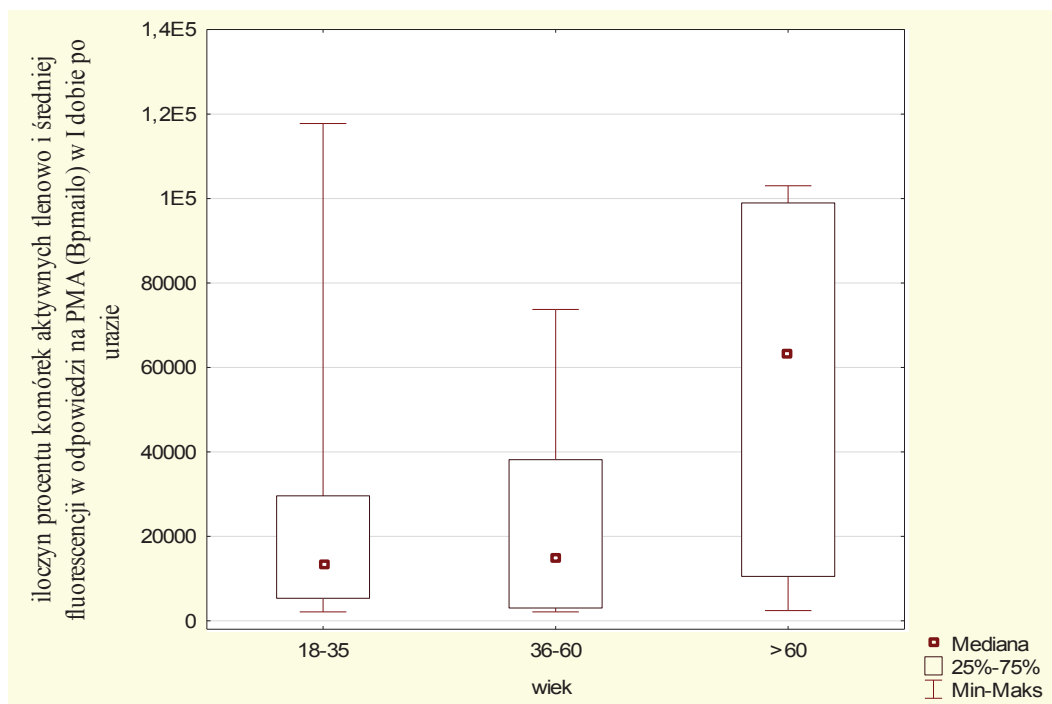
Wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości Bbakilo w II dobie po urazie w grupie chorych w wieku >60 lat w porównaniu do grupy chorych w średnim wieku (wykres 83). Stwierdzono wyższe wartości Bpmailo i Bfmplilo w I dobie po urazie w grupie chorych w wieku >60 lat (wykresy 84, 85). Nie wykazano zależności od wieku pozostałych parametrów „wybuchu tlenowego”.



Wykres 83. Wartości iloczynu odsetka komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (Bbakilo) w grupie chorych z MOC w II dobie po urazie w poszczególnych przedziałach wiekowych



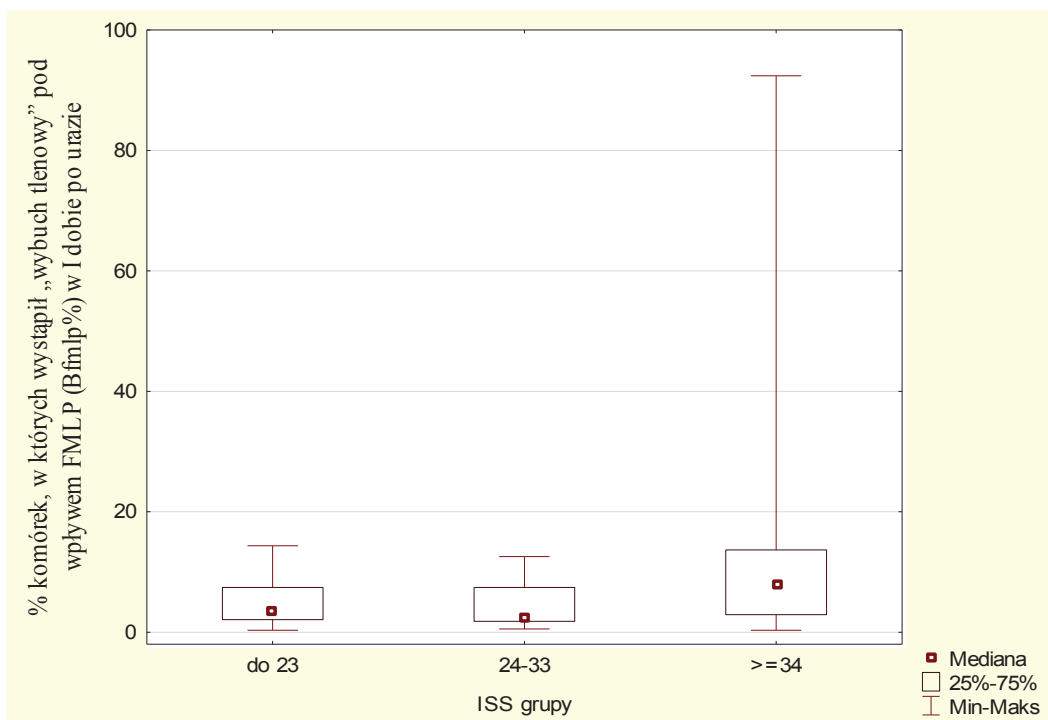
Wykres 84. Wartości iloczynu odsetka komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na FMLP (Bfmlpilo) w grupie chorych z MOC w I dobie po urazie w poszczególnych przedziałach wiekowych



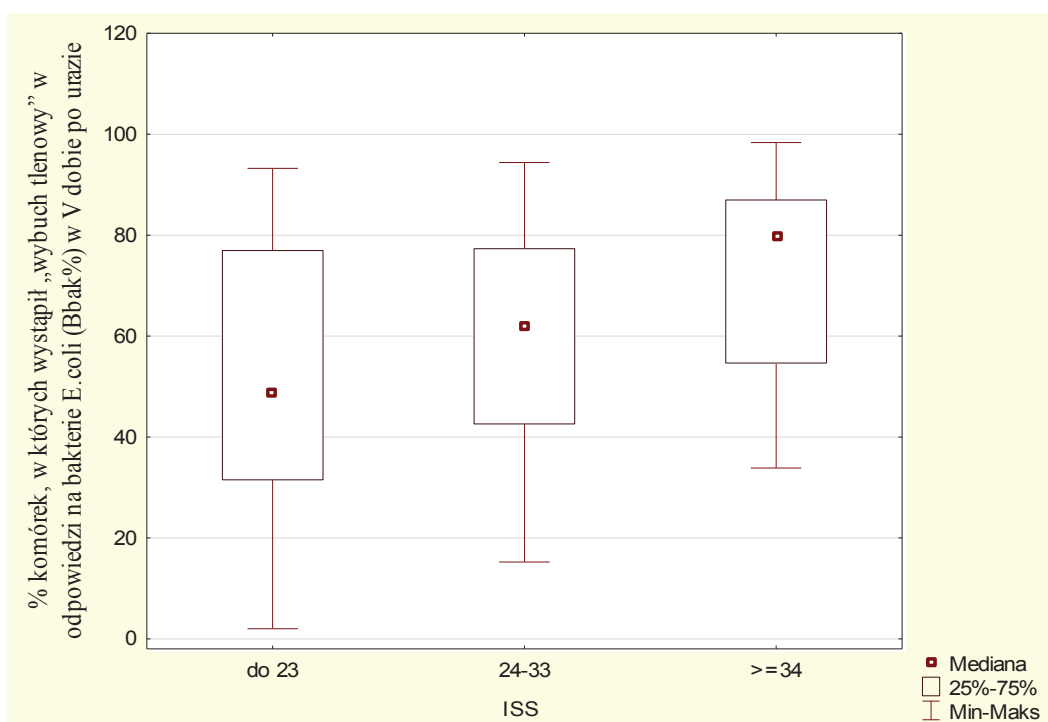
Wykres 85. Wartości iloczynu odstka komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na PMA (Bpmailo) w grupie chorych z MOC w I dobie po urazie w poszczególnych przedziałach wiekowych

4.6. Zależność parametrów „wybuchu tlenowego” od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS

W grupie badanej wykazano statystycznie wyższe wartości Bfmlp% w I dobie po urazie w grupie chorych z $ISS \geq 34$ (wykres 86). Stwierdzono również statystycznie wyższą wartość Bbak% w V dobie po urazie w grupie z $ISS \geq 34$, a grupą z $ISS \leq 23$ (wykres 87).

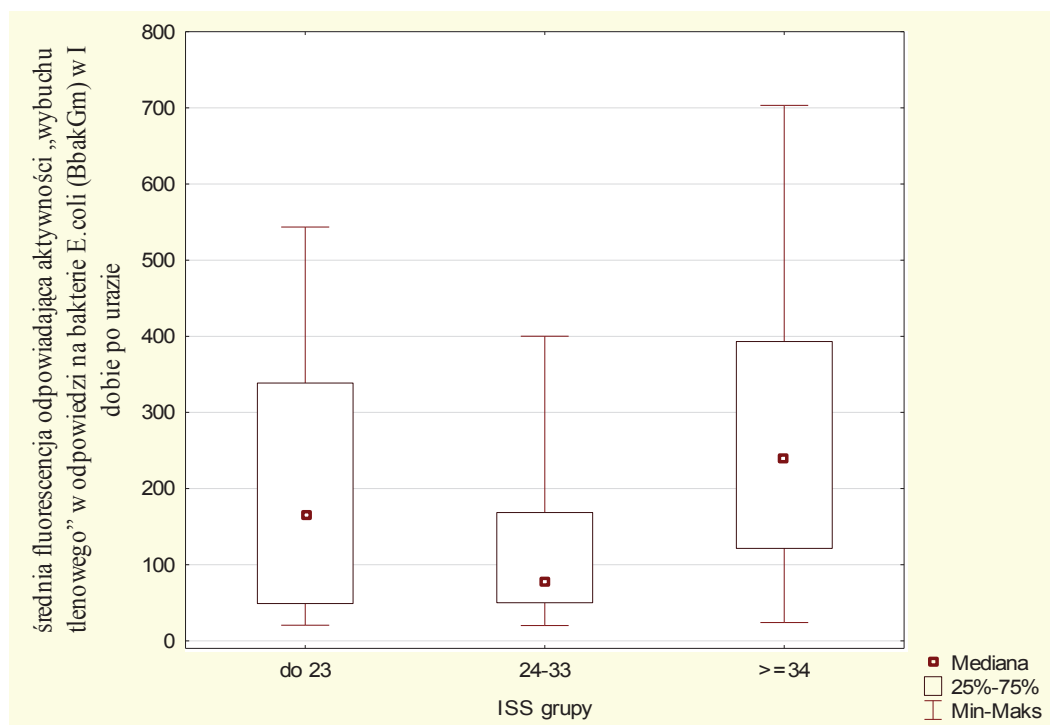


Wykres 86. Odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na FMLP(Bfmpl%) w I dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości wskaźnika ISS



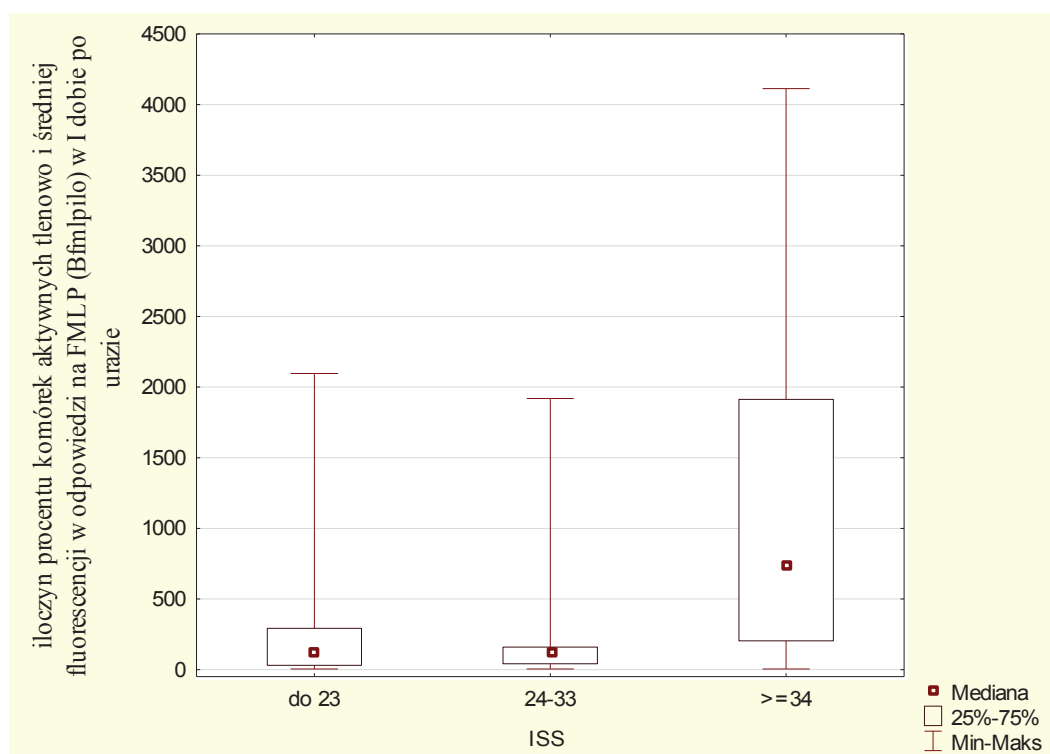
Wykres 87. Odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (Bbak%) w I dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości ISS

Wykazano statystycznie wyższą wartość BbakGm w I dobie po urazie w grupie z $ISS \geq 34$, w porównaniu z grupą z $ISS 24-33$ (wykres 88).



Wykres 88. Średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E. coli* (BbakGm) w I dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości wskaźnika ISS

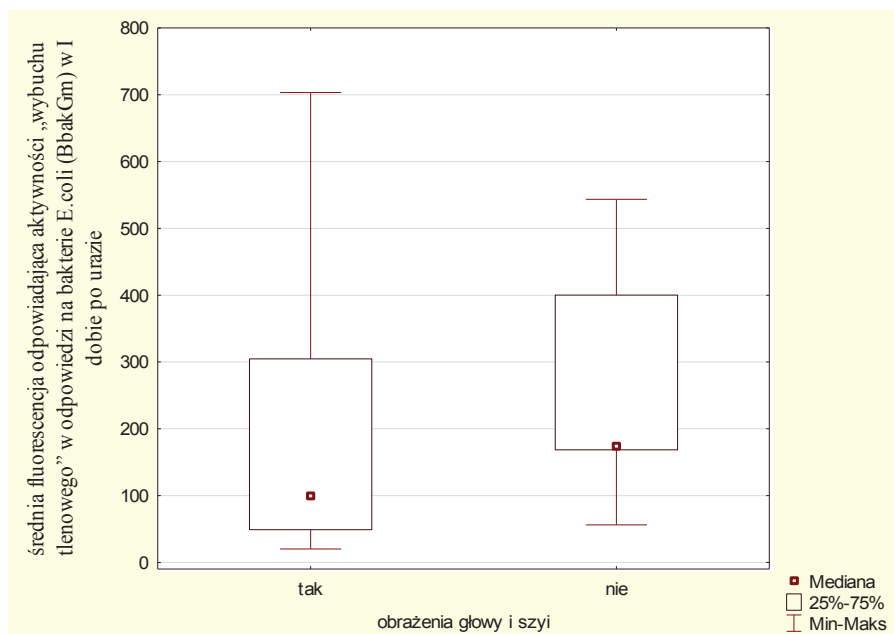
Wykazano statystycznie wyższe wartości Bfmlpilo w I dobie po urazie w grupie chorych z $ISS < 34$ (wykres 89).



Wykres 89. Wartości iloczynu odsetka komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na FMLP (Bfmplilo) w I dobie po urazie u chorych z MOC (Gb) w poszczególnych grupach w zależności od wartości wskaźnika ISS

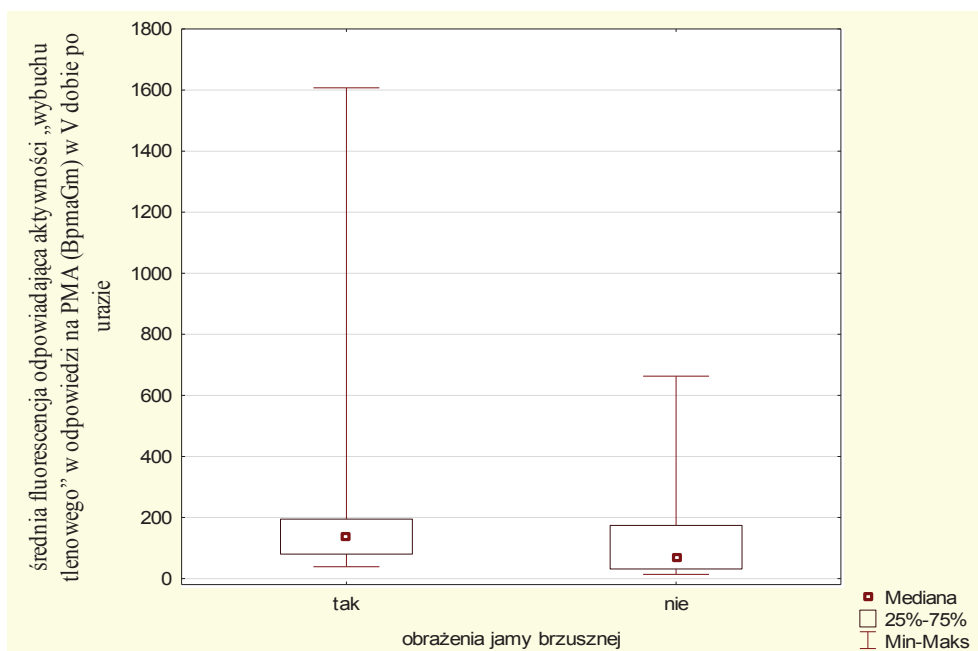
4.7. Zależność badanych parametrów „wybuchu tlenowego” od okolicy doznanych obrażeń i występowania chorób współistniejących

W grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) wykazano statystycznie znamienne niższe wartości BbakGm w I dobie po urazie u chorych z obrażeniami głowy (wykres 90).

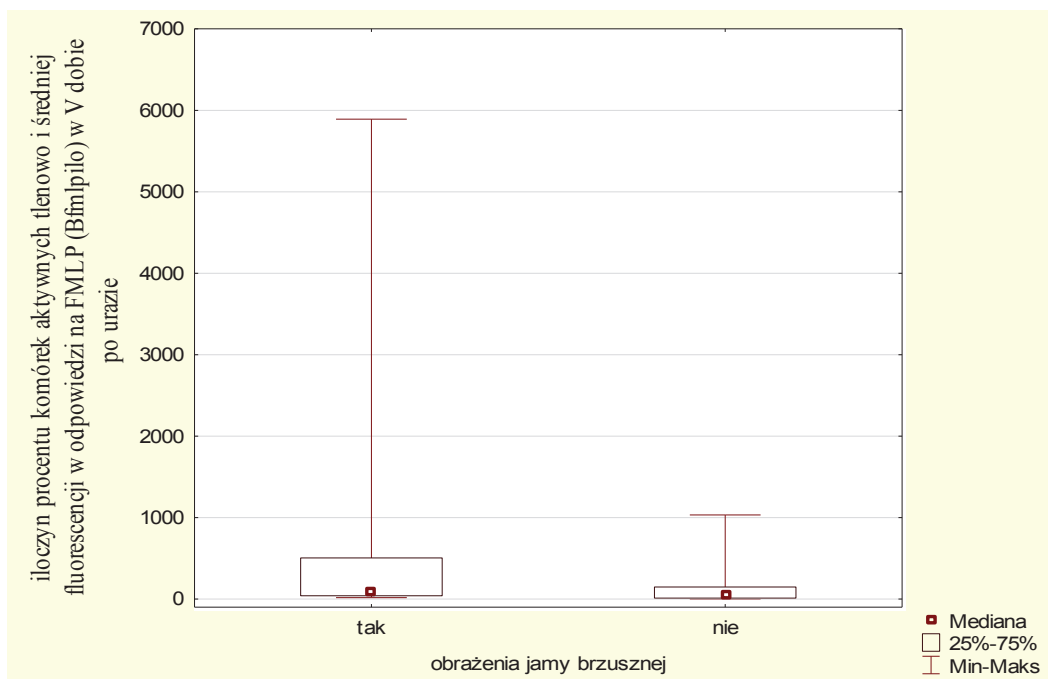


Wykres 90. Średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E.coli* (BbakGm) w I dobie po urazie u chorych z MOC w zależności od występowania obrażeń głowy i szyi

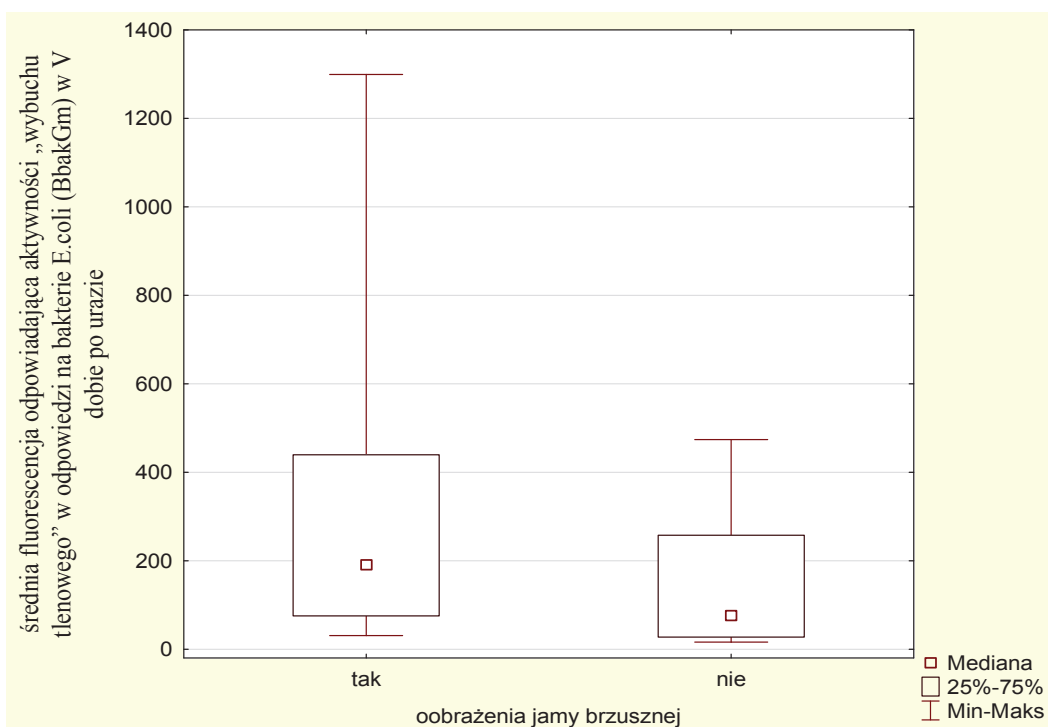
U chorych z obrażeniami brzucha stwierdzono wyższe wartości BpmaGm, Bpmailo oraz BbakGm (wykresy 91-93).



Wykres 91. Średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na PMA (BpmaGm) w V dobie po urazie u chorych z MOC w zależności od występowania obrażeń jamy brzusznej



Wykres 92. Wartości iloczynu odsetka komórek aktywnych oraz średniej fluorescencji w odpowiedzi na PMA (Bpmailo) w V dobie po urazie u chorych z MOC w zależności występowania obrażeń jamy brzusznej



Wykres 93. Średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E. coli* (BbakGm) w V dobie po urazie u chorych z MOC w zależności od występowania obrażeń jamy brzusznej

Nie wykazano wpływu obrażeń pozostałych okolic anatomicznych na poziom badanych parametrów „wybuchu tlenowego”.

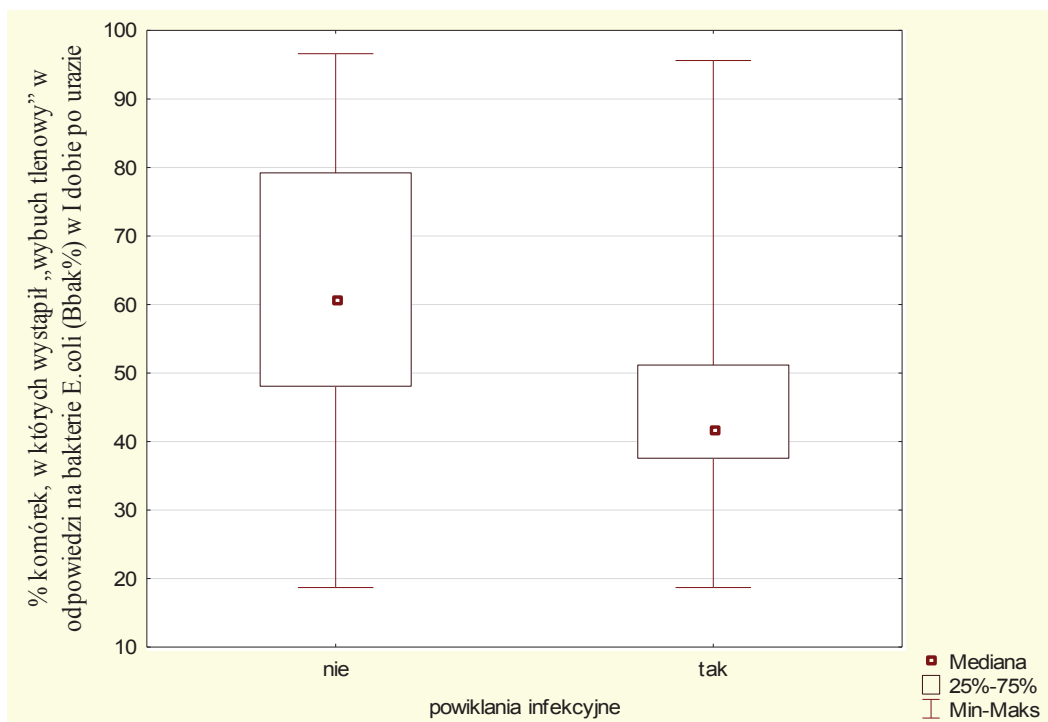
4.8. Zależność badanych parametrów „wybuchu tlenowego” od postępowania leczniczego t.j. przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego

W grupie chorych z obrażeniami mnogimi (Gb) nie wykazano zależności parametrów „wybuchu tlenowego” od zastosowania przetoczeń preparatów krwi.

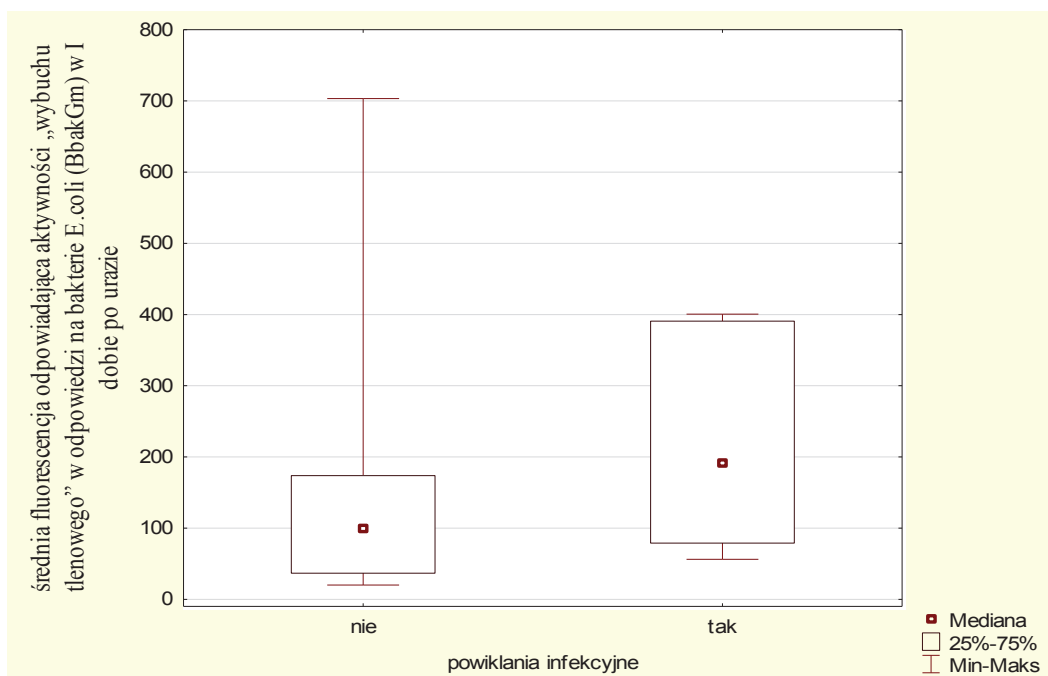
Nie stwierdzono również korelacji pomiędzy dobą przeprowadzenia pierwszego zabiegu operacyjnego, a badanymi parametrami „wybuchu tlenowego”.

4.9. Korelacja pomiędzy wartością badanych parametrów „wybuchu tlenowego”, a występowaniem powikłań zakaźnych.

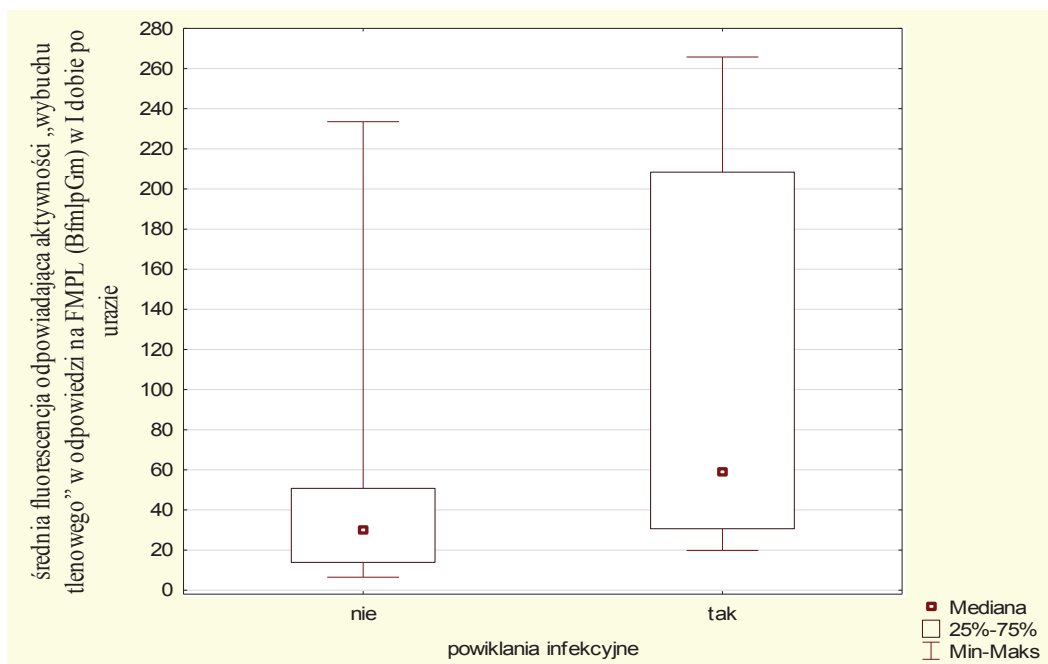
W grupie chorych z MOC (Gb) stwierdzono ujemną korelację wartości Bbak% oraz dodatnią w przypadku BbakGm, BfmplpGm i BpmaGm w pierwszej dobie po urazie, a występowaniem powikłań zakaźnych (wykresy 94-97).



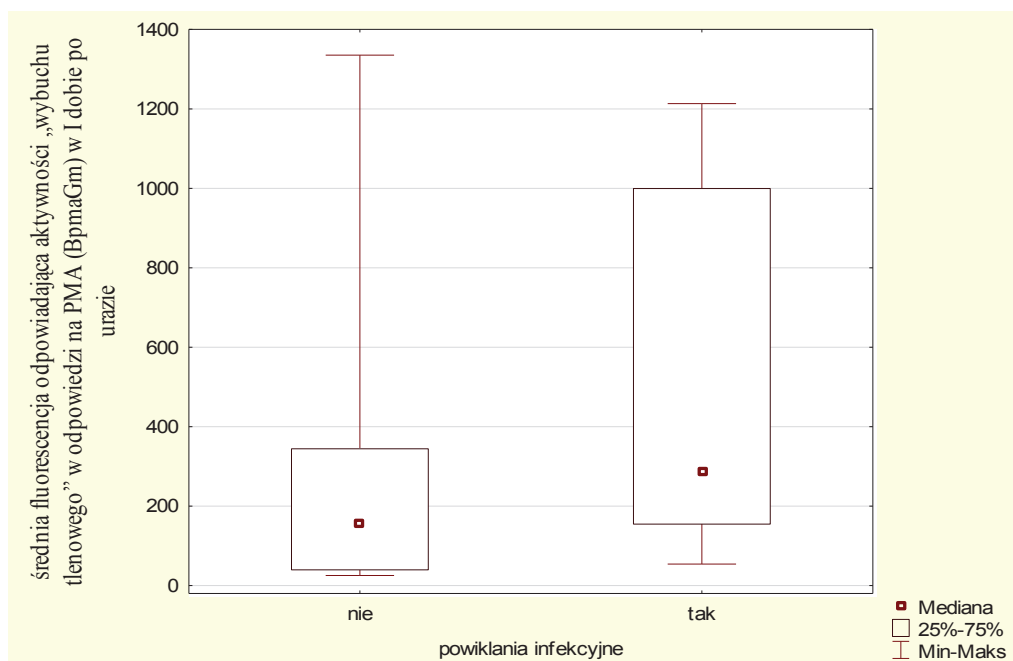
Wykres 94. Odsetek komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi bakterie *E. coli* (Bbak%) w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań



Wykres 95. Średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na bakterie *E. coli* (BbakGm) w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań



Wykres 96. Średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na FMLP (BfmlpGm) w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań



Wykres 97. Średnia fluorescencja komórek, w których wystąpił „wybuch tlenowy” w odpowiedzi na PMA (BpmaGm) w I dobie po urazie u chorych z mnogimi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań

Grupa kontrolna chorych z obrażeniami pojedynczymi, pomimo liczebności jedynie 20 osób stanowiła również interesującą populację dla analizy statystycznej. Oceniono więc w jej obrębie badane parametry stanu zapalnego – poziom leukocytów, OB, CRP, cytokiny oraz parametry fagocytozy i „wybuchu tlenowego” w zależności od wieku i płci chorych, ciężkości i lokalizacji obrażeń, stosowanego postępowania leczniczego oraz występowania powikłań infekcyjnych. Dla większej przejrzystości pracy i dane te umieszczono w aneksie na końcu rozprawy.

V OMÓWIENIE I DYSKUSJA

Uraz prowadzi do uszkodzenia tkanek, co uruchamia automatycznie reakcję obronną organizmu, mającą na celu przywrócenie homeostazy oraz stworzenie optymalnych warunków dla regeneracji uszkodzonych struktur. Nasilenie tej reakcji w dużej mierze zależy od siły urazu oraz rozległości obrażeń. Niewielkie pojedyncze obrażenia powodują jedynie mniejszą odpowiedź organizmu. Wraz ze wzrostem ich ciężkości odpowiedź organizmu nie tylko miejscowo się nasila, ale również staje się uogólniona. W przypadku obrażeń mnogich zarówno ciężkość, jak i ich rozległość jest znaczna, co prowadzi do szczególnie nasilonej odpowiedzi organizmu [20, 33, 62,63].

W sytuacjach, gdy reakcja zapalna, stanowiąca podstawowy mechanizm obrony po każdym urazie staje się zbyt silna, dochodzi do zaburzenia jej przebiegu, co może prowadzić do spadku odporności, dysfunkcji narządów, a nawet niewydolności wielonarządowej [20, 21, 34]. We wczesnej fazie odpowiedzi na uraz szczególną rolę odgrywają wydzielane wówczas substancje, w tym cytokiny oraz komórki fagocytujące i limfocyty. Istotne są również aminy biogenne, eikozanoidy oraz inne mediatory zapalenia, jak białka „ostrej fazy”, czy też aktywne formy tlenu. Te ostatnie odgrywają również ważną rolę w wewnątrzkomórkowym niszczeniu drobnoustrojów. W dalszej fazie znaczenie mają cytokiny przeciwzapalne, które modyfikują aktywność komórek zapalnych dążąc do ograniczenia zapalenia [20, 21, 42]. W ostatnich latach prowadzono liczne badania nad zaburzeniami immunologicznymi wywołanymi urazem. Większość z nich wykazała obniżenie odporności organizmu we wczesnej fazie po urazie. Badania te dotyczyły głównie uszkodzeń wywołanych eksperymentalnie na modelu zwierzęcym, urazu operacyjnego, oparzeń oraz różnego rodzaju obrażeń pojedynczych [64, 65, 66, 67, 68]. Jedynie pojedyncze badania dotyczyły chorych z mnogimi obrażeniami ciała (MOC). W niniejszym badaniu dokonano analizy jednocześnie poziomy najważniejszych cytokin pro- i przeciwzapalnych jako aktywatorów i modulatorów reakcji zapalnej, ale również funkcje komórek żernych jako jej efektorów. Dodatkowo uzyskane wyniki skorelowano z podstawowymi i standardowo mierzonymi parametrami stanu zapalnego, czyli liczbą leukocytów we krwi obwodowej, OB i stężeniem białka C-reaktywnego. Badania przeprowadzono we wczesnej fazie po urazie (I, II i V doba). W tym okresie zachodzą istotne zmiany w organizmie, również zapadają kluczowe decyzje terapeutyczne mogące przesądzać o losie chorego po urazie.

1. Podstawowe parametry stanu zapalnego

1.1. Odczyn Biernackiego

W codziennej praktyce klinicznej do oceny aktywności stanu zapalnego stosuje się głównie dwa podstawowe parametry tj. liczbę leukocytów w jednostce krwi obwodowej oraz wartość CRP. Metodą historyczną jest pomiar OB, czyli wskaźnika opadania krwinek czerwonych. Parametr został wprowadzony w 1897 r. przez Edmunda Biernackiego i był korelowany z różnymi stanami chorobowymi wzrasta również w przypadku reakcji zapalnej. Obecnie używa się go rzadko, najczęściej jako testu mającego na celu określenie prawdopodobieństwa występowania choroby u pacjentów bez objawów lub z niespecyficznymi i niejasnymi symptomami. Dzieje się tak dlatego, iż parametr ten jest bardzo niespecyficzny i jest podwyższony w różnych schorzeniach, jak również w stanach fizjologicznych np. w okresie ciąży, czy miesiączki. Dodatkowo, niedokrwistość powoduje wzrost wartości OB, co w przypadku chorych po urazie, którzy często mają obniżoną liczbę krwinek czerwonych z powodu krwawień i zastosowanej płynoterapii może zaburzać obraz [69, 70, 71, 72]. Niewiele jest badań naukowych, w których oceniano wartość OB u chorych z obrażeniami ciała. Jednak z racji praktycznie nieograniczonej dostępności oraz niskich kosztów postanowiłam włączyć ten parametr do badania. Uzyskano wyniki potwierdzające wartości OB powyżej normy w II dobie po urazie i ich wzrost w V dobie. Wartości te były znacząco wyższe w grupie chorych z MOC (Gb) niż w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2), co może sugerować większą intensywność reakcji zapalnej w pierwszej z tych grup. Średnia liczba erytrocytów w poszczególnych dobach badania była w obu grupach zbliżona, co wyklucza wpływ niedokrwistości na różnice wartości OB u tych chorych. Ciekawe jest, iż ciężkość obrażeń wyrażona wskaźnikiem ciężkości obrażeń ISS nie miała większego wpływu na wartość OB u chorych z MOC, a nawet korelowała odwrotnie w pierwszej dobie po urazie. Natomiast u chorych z obrażeniami pojedynczymi ciężkość obrażeń wyrażona w skali AIS korelowała dodatnio ze wzrostem OB w II i V dobie po urazie. Może to sugerować, iż zmiany w składzie krwi u chorych z ciężkimi, mnogimi obrażeniami ciała mogą zaburzać opadanie krwinek czerwonych. W obu grupach Gb i G2 stwierdzono korelację dodatnią wartości OB i występowania powikłań infekcyjnych w późniejszym

okresie. Z uwagi na to, że objawy zakażenia występowały pomiędzy 7 a 13 dobą od urazu, wyniki te mogą być związane z obecnością zakażenia u części chorych już w V dobie po urazie, jeszcze w fazie bezobjawowej.

1.2. Poziom leukocytów we krwi obwodowej

Już w 1919 roku Keith zauważył podwyższony poziom leukocytów u pacjentów po urazach wojennych, najwyższy u chorych z obrażeniami kończyn [73]. W kolejnych dziesięcioleciach stwierdzano znaczący poziom leukocytozy u chorych po urazach śledziony i wątroby. Wykazywano również korelację zarówno wysokiej leukocytozy, jak również leukopenii ze złą prognozą u chorych po ciężkich urazach [73, 74]. Jednak w badaniach tych nie brano pod uwagę czasu wykonywania badania, a metodologia nie była przygotowana z dostateczną starannością. Późniejsze badania koncentrowały się na badaniu poziomu leukocytów w dniu przyjęcia chorego do szpitala i wykazywały brak lub jedynie niewielką korelację z ciężkością obrażeń oraz z obrażeniami jamy brzusznej. Trzeba jednak zauważyć, iż do badań kwalifikowano chorych jedynie z obrażeniami zamkniętymi i często nie odróżniano obrażeń mnogich od pojedynczych [75, 77, 78, 79]. W 2005 r. Walsh i wsp. badając funkcję monocytów u chorych po urazach z obrażeniami mnogimi (ISS>20) oceniali również całkowitą liczbę leukocytów stwierdzając wyższe poziomy w I i II dobie po urazie i następnie spadek do doby piątej. Za poziom leukocytów odpowiadał głównie wzrost poziomu granulocytów obojętnochłonnych i w mniejszym stopniu monocytów. Wyższe wartości liczby krwinek białych w kolejnych dobach wydają się być związane z przeprowadzanymi chirurgicznymi procedurami elektywnymi oraz z powikłaniami [53]. W pojedynczych badaniach wykazywano korelację pomiędzy poziomem leukocytów w I dobie z ISS, a rokowaniem. Jednak parametr ten określano jako niespecyficzny i mało wartościowy [46, 48, 76]. W niniejszej rozprawie stwierdziłam najwyższy poziom leukocytów w I dobie po urazie i ich spadek w kolejnych dobach, podobnie jak u innych autorów zarówno w grupie chorych z MOC (Gb), jak i z pojedynczymi (G2) i nie wykazano różnic w liczbie krwinek białych pomiędzy tymi grupami. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy liczbą leukocytów, a ciężkością obrażeń wyrażoną w skalach AIS, ISS i GCS w obu grupach; nie tylko w I dobie po urazie, ale i w II i V. Wykazano jedynie słabą korelację z wartością zmodyfikowanego wskaźnika urazu RTS w V dobie po urazie. W grupie chorych z obrażeniami mnogimi nie stwierdzono korelacji pomiędzy okolicą doznanych obrażeń

i liczba krwinek białych. U chorych z obrażeniami pojedynczymi wykazano wyższy poziom leukocytów w V dobie po urazie w przypadku obrażeń kończyn podobnie, jak w badaniach Keitha z 1919r. [73]. W pojedynczych badaniach stwierdzono również wyższy poziom leukocytów u chorych po przetoczeniach krwi w I dobie po urazie [80]. W moim badaniu stwierdziłam podobną korelację, ale nie w I a w V dobie hospitalizacji w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2). Co ciekawe, pomimo przetaczania większej objętości preparatów krwi u chorych z MOC (Gb) takiej korelacji nie obserwowano. Nie stwierdzono również zależności liczby leukocytów z występowaniem powikłań zakaźnych w grupie badanej (Gb). Natomiast w grupie kontrolnej G2 (obrażenia pojedyncze) stwierdzono taką zależność w V dobie po urazie. Na uwagę zasługuje fakt, iż w tej grupie chorzy z obrażeniami kończyn częściej ulegali powikłaniom zakaźnym.

1.3. Poziom białka C-reaktywnego CRP

Białko C-reaktywne zastało odkryte w 1930 roku przez Francisa Tilleta we krwi chorych na zapalenie płuc [79]. W kolejnych dziesięcioleciach zyskało na znaczeniu jako czuły parametr stanu zapalnego i obecnie pomiar jego poziomu jest standardowym badaniem w wielu grupach pacjentów. Wzrost CRP jest specyficzny dla procesu zapalnego, niezależnie od jego przyczyny. Chociaż najwyższe jego poziomy są obserwowane przy zakażeniach bakteryjnych, jednak nie są to wartości pozwalające na różnicowanie od przyczyn nie infekcyjnych [79, 81, 82]. Do tego celu stosuje się pomiar poziomu prokalcytoniny (PCT), której wzrost jest charakterystyczny dla infekcji bakteryjnych. Wprawdzie, obserwuje się jej nieznaczny wzrost po ciężkich urazach, ale nie jest on charakterystyczny [83]. U kilkunastu chorych z MOC w moim badaniu pomiar PCT był wykonywany w II dobie po urazie i wyniki pozostawały w normie.

W badaniach dotyczących okresu po operacjach chirurgicznych (czyli po urazie operacyjnym) najwyższe poziomy CRP stwierdzano w ciągu pierwszych 24-48 h po zabiegu, niezależnie od rodzaju zabiegu (neurochirurgiczny, kardiochirurgiczny, laparotomia, laparoscopia) i wieku pacjentów (dzieci, dorośli) [64, 82, 84, 85]. Jednak w pracach odnoszących się do urazów zarówno pojedynczych, jak i mnogich maksymalny wzrost CRP występował między II i IV dobą po urazie [38, 83, 86, 87, 88]. W niniejszym badaniu

stwierdziłam również najwyższe wartości CRP w II dobie po urazie; jednak utrzymywały się one na zbliżonym poziomie również w V dobie.

U chorych po operacjach neurochirurgicznych oraz u niemowląt po różnego rodzaju zabiegach operacyjnych stwierdzono zależność wartości CRP we wczesnym okresie po zabiegu, a rozległością przeprowadzonej procedury [64, 81, 84, 85]. U chorych po urazach jedynie w pojedynczych badaniach stwierdzano korelację poziomu CRP z ciężkością obrażeń, szczególnie u chorych przebywających w oddziałach intensywnej terapii [86, 87, 89]. Pozostałe badania nie wykazują zależności poziomu CRP od ciężkości urazów wyrażanych skalą AIS i ISS zarówno u chorych z obrażeniami pojedynczymi, jak i z mnogimi [41, 67, 86, 88]. W tym badaniu również nie stwierdzono takiej zależności. Nie wykazano również korelacji poziomu CRP z wartością RTS. W badaniu dotyczącym urazów głowy u dzieci obserwowano wyższe poziomy CRP w II dobie po urazie u chorych z GCS<8 [88]. W niniejszej pracy również analizowano wartość GCS; jednak z racji problemów technicznych (czas na uzyskanie zgody sądowej na udział pacjenta z ograniczonej świadomością przekraczał 48h) wartości GCS w badanych grupach były znacznie wyższe.

W większości badań najwyższe wartości CRP zawarte były pomiędzy 20-40mg/l po operacjach złamania żuchwy [67], 35-150mg/l po zabiegach neurochirurgicznych [82], 100-250 mg/l u po zabiegach kardiochirurgicznych [84] i 40-220mg/l po zabiegach na jamie brzusznej [64]. U dzieci po urazach głowy wynosiły one 60-80 mg/l [88], a u chorych po ciężkich urazach mnogich 80-250mg/l [78, 89, 90]. W moich badaniach mediana wartości CRP u chorych z obrażeniami pojedynczymi wynosiła 44 mg/l przy maksimum 206mg/l, a w grupie chorych z obrażeniami mnogimi 68mg/l przy maksimum 278mg/l. Co więcej, najwyższe poziomy CRP (w II dobie po urazie) u chorych z obrażeniami mnogimi były statystycznie wyższe niż w przypadku obrażeń pojedynczych. Niestety, w dostępnych mi badaniach nie przeprowadzano takiego porównania.

W części badań dotyczących obrażeń mnogich zauważono dodatnią korelację wartości CRP z występowaniem powikłań infekcyjnych, głównie zapalenia płuc u chorych z obrażeniami mnogimi [79]. Jednak duża część prac świadczy o braku korelacji wysokich wartości CRP z powikłaniami infekcyjnymi [67, 78, 87]. Za punkt odcięcia dla przewidywania wystąpienia ciężkich zakażeń, w tym sepsy, u chorych bez urazu uznano 50mg/l z czułością 75% i specyficznością 98,5%. Jednak nie obserwowano takiej zależności u chorych po urazach [79]. W moich badaniach nie tylko wykazano korelację poziomu CRP

z występowaniem zakażeń zarówno w grupie chorych z obrażeniami mnogimi, jak i w grupie kontrolnej z chorych z obrażeniami pojedynczymi, ale określiłam punkt odcięcia wartości CRP dla obu grup. I tak, w przypadku obrażeń pojedynczych wartości CRP w II dobie powyżej 68,76 korelowały z obecnością powikłań infekcyjnych z czułością 83,3% i specyficznością 93%. W V dobie wartości powyżej 80,4 w 100% przewidywały zakażenie. Jednak, jako iż objawy infekcji występowały pomiędzy 7 a 13 dobą, korelacja ta może wiązać się z już istniejącym zakażeniem, a jeszcze bezobjawowym. U chorych z obrażeniami mnogimi punkt odcięcia wartości CRP w II dobie po urazie wynosił 154,4 z czułością 50% i specyficznością 93,5%. Niska czułość wiąże się prawdopodobnie z intensywną reakcją zapalną, w tym z zespołem SIRS, występującym często w tej grupie chorych. Jednak informacja, iż u połowy pacjentów z takim wynikiem i to już w II dobie, rozwinie się powikłanie infekcyjne, może co najmniej uczulić klinicystę i przez to przyczynić się do poprawy ogólnych wyników leczenia chorych po ciężkich urazach.

Pomimo doniesień, iż uraz operacyjny również wywołuje reakcję zapalną i wzrost CRP w swoim badaniu nie stwierdziłam zależności poziomu CRP od doby przeprowadzenia zabiegów chirurgicznych w żadnej z grup [81, 82, 84, 91].

W dotychczasowych badaniach nie analizowano korelacji wartości CRP i przetoczeń preparatów krwi, jednak uzyskane przeze mnie wyniki wydają się interesujące. Stwierdziłam statystycznie znamienne wyższe poziomy wartości CRP w II i V dobie po urazie zarówno u chorych z obrażeniami mnogimi, jak i pojedynczymi u pacjentów, którym przetaczano preparaty krwi. Biorąc pod uwagę, iż wartości te korelują dodatnio z występowaniem powikłań infekcyjnych, warto wykazać wzmożoną czujność u chorych leczonych przetoczeniami krwi.

Podobną, wartość kliniczną mogą mieć wykazane przeze mnie wyższe poziomy CRP w II dobie po urazie u chorych po urazach głowy, zarówno pojedynczych, jak i w grupie z MOC oraz obrażeń układu ruchu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami. Odmienność reakcji immunologicznej po urazach głowy była opisana w kilku pracach; jednak jedynie w badaniach u dzieci analizowano poziom CRP i tu również najwyższe wartości obserwowano w II dobie po urazie [88].

Podsumowując, badanie poziomu CRP we wczesnej fazie po urazie wydaje się mieć duże znaczenie praktyczne w postępowaniu z chorym po urazach mnogich, jak

i pojedynczych, zarówno jako wskaźnik stanu immunologicznego chorego, jak też czynnik predykcyjny zakażeń.

2. Poziomy cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych

Rola cytokin w reakcji zapalnej została dość dobrze poznana. Są jednymi z najważniejszych aktywatorów, modulatorów, ale również inhibitorów zapalenia. Wydzielane są przez komórki śródbłónka i leukocyty w reakcji na uszkodzenie tkanek. Ciężkie, a zwłaszcza MOC szczególnie mocno pobudzają ich wydzielanie, co często prowadzi do ich hipersekrecji nasilającej zapalenie prowadząc do rozwoju SIRS, ale i w późniejszej fazie CARS (zespołu kompensacyjnej reakcji przeciwzapalnej) mogących doprowadzić do dysfunkcji i niewydolności wielonarządowej oraz ciężkich powikłań zakaźnych, w tym sepsy [21, 49, 87, 90].

W bardzo wczesnej fazie po urazie główną rolę odgrywają cytokiny TNF α oraz IL1 β . Jednak ich stężenie równie gwałtownie wzrasta, jak i spada, co powoduje iż jedynie w nielicznych badaniach, w których pobierano próbki w momencie przyjęcia do oddziału ratunkowego udało się zaobserwować ich wysokie poziomy [19, 47, 49, 66, 87]. W moim badaniu nie wykazałam podwyższonego poziomu tych cytokin nawet w I dobie po urazie, jednak próbki krwi były pobierane po wstępnej diagnostyce i stabilizacji stanu chorych; zwykle po kilku godzinach od urazu.

TNF α oraz IL1 β pobudzają natomiast wydzielanie kolejnych cytokin prozapalnych IL6 i IL8. Ich wzrost był obserwowany w wielu badaniach zarówno u chorych z obrażeniami pojedynczymi, jak i mnogimi, a także po zabiegach operacyjnych. Najwyższe poziomy obserwowano w ciągu pierwszych 2-3 dni po urazie z następowym spadkiem w V dobie [49, 53, 66, 85, 88]. W moich badaniach stwierdzono taki sam przebieg zmian w poziomie IL6 i IL8 u chorych z obrażeniami mnogimi. W grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami wartości IL6 i IL8 narastały w czasie i najwyższe były w V dobie po urazie. Jednak ich poziomy były statystycznie znacznie niższe niż te u chorych z MOC. Można przypuszczać, że różnica ta wynika z faktu, iż u chorych z obrażeniami pojedynczymi zabiegi operacyjne były przeprowadzane najczęściej w ciągu tych pierwszych 5 dni od urazu, a jak niejednokrotnie wykazywano, sam zabieg operacyjny indukuje wzrost poziomu tych cytokin.

W dotychczasowych badaniach rzadko analizowano poziom cytokin u chorych po urazach w zależności od wieku – jedno badanie dotyczyło osób w wieku starszym i badano w nim IL6, ale nie porównywano z osobnikami w innym wieku [68]. Jednak warto podkreślić wyższe poziomy IL8 w V dobie po urazie u chorych z MOC po 60 tym roku życia, ponieważ korelowały one dodatnio z występowaniem powikłań zakaźnych.

W większości dotychczasowych prac podkreślano zależność wartości IL6, a w niektórych IL8, od ciężkości doznanych obrażeń wyrażanej w skali ISS [18, 21, 79, 87]. W moim badaniu wykazałam taką zależność dla IL6 w pierwszej dobie po urazie w grupie pacjentów z MOC – chorzy z ISS>34 mieli najwyższe wartości IL6. Dodatkowo u tych pacjentów stwierdziłam najwyższe poziomy IL10 w V dobie po urazie, co może świadczyć pośrednio o silnej immunosupresji, jako iż jest ona jedną z głównych cytokin przeciwzapalnych. Nie obserwowano podobnej zależności dla IL8. Natomiast w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi nie stwierdziłam korelacji poziomów cytokin z ciężkością doznanych obrażeń.

Badania prowadzone u chorych po ciężkich urazach wykazały wyższe wartości IL6 i IL8 u chorych z obrażeniami głowy i/lub klatki piersiowej w zespole MOC w ciągu pierwszych 48h po urazie. Nie stwierdzano podobnych zależności u pacjentów z izolowanymi obrażeniami tych okolic [38, 92]. W moich badaniach nie znalazłam takich zależności w grupie chorych z obrażeniami mnogimi. Natomiast wartości IL6 w I i II dobie po urazie były wyższe u chorych z obrażeniami jamy brzusznej i układu ruchu. Również poziomy IL10 w II dobie były wyższe w przypadku chorych z obrażeniami jamy brzusznej. Obrażenia klatki piersiowej indukowały wyższe poziomy IL6 i IL8, ale w grupie chorych z izolowanymi jej uszkodzeniami. Brak korelacji obrażeń głowy w zespole MOC z poziomem badanych cytokin może wynikać z faktu iż obrażenia te występowały u 76% chorych. Trudno zatem o statystycznie znaczne porównanie.

W pojedynczych badaniach wykazano wyższe poziomy IL6 u chorych, u których stosowano masywne przetoczenia krwi (>15j.KKCz) [87]. W moim badaniu nie stwierdziłam zależności poziomów cytokin od stosowania preparatów krwi. Jednak u chorych włączonych do badania nie stosowano tak dużej liczby przetoczeń. Badania dotyczące wpływu przetoczeń na układ immunologiczny (nie dotyczące chorych po urazach) wykazywały wzrost cytokin przeciwzapalnych, m.in. IL10 po stosowaniu preparatów krwi [80, 93, 94, 95]. W moim badaniu nie stwierdziłam takiej zależności.

Pomimo potwierdzonego wpływu urazu operacyjnego na wybrane parametry układu odpornościowego, w tym poziomy cytokin [39, 64, 68], w moim badaniu nie stwierdziłam zależności czasu przeprowadzenia pierwszego zabiegu operacyjnego na wydzielanie badanych cytokin w żadnej z grup. Być może stymulacja wywołana ciężkim urazem powoduje, że następujący po nim dodatkowy uraz w postaci procedury operacyjnej nie jest w stanie zainicjować bardziej nasilonej reakcji.

W większości prac wykazywano zależność wartości IL6 i IL8 we wczesnej fazie po urazie i rokowania, co do rozwoju niewydolności wielonarządowej MOF, przeżycia, jak również występowania zakażeń będących jedną z głównych przyczyn śmierci chorych po urazie w okresie późniejszym [39, 50, 79, 90]. W moich badaniach nie analizowałam śmiertelności, ponieważ na szczęście wszyscy pacjenci przeżyli skutki urazu. Jednak wykazano korelację poziomu IL6 w I dobie z występowaniem powikłań zakaźnych u chorych z obrażeniami mnogimi, a także w grupie kontrolnej pacjentów z urazami izolowanymi. Warto podkreślić, iż IL6 jest głównym aktywatorem wydzielania CRP. Wcześniej wskazano na stwierdzoną korelację wartości CRP w II dobie po urazie z występowaniem powikłań infekcyjnych. W niektórych ośrodkach urazowych, zwłaszcza w Niemczech, zaczęto monitorować IL6 u chorych z mnogimi obrażeniami ciała [21, 79, 87]. W moich badaniach wykazano zależność poziomu IL6 w pierwszej dobie po urazie i występowania zakażeń. Badanie wykazało jedynie wyższą czułość tego badania w porównaniu do wartości CRP w II dobie po urazie (68,75% dla IL6 i 50% dla CRP), ale znacznie niższą specyficzność – 65,2% dla IL6 przy 93,5% dla CRP. Biorąc to pod uwagę oraz większą dostępność i niższą cenę badania poziomu CRP, można rozważyć stosowanie jedynie jego monitorowania jako wystarczającego w opiece nad chorymi po urazach, zarówno mnogich, jak i pojedynczych. W tej pracy stwierdzono również, wyższe poziomy IL8 w V dobie po urazie u chorych z obrażeniami mnogimi i w II dobie z obrażeniami pojedynczymi u pacjentów, u których wystąpiły powikłania infekcyjne. Podobne zależności obserwowano w innych dotychczasowych pracach [21, 52, 87, 92]. W przypadku chorych z MOC wartości IL8 w V dobie mogły być jednak wynikiem już obecnego zakażenia w fazie utajonej. Niektóre prace wykazywały również korelację pomiędzy poziomem IL10, a powikłaniami ze strony układu oddechowego – zarówno infekcyjnymi, jak i ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome – zespół ostrej niewydolności oddechowej) [87, 92]. W moim badaniu nie stwierdziłam podobnej zależności.

W grupie chorych z MOC najwyższe poziomy IL6 w I dobie po urazie występowały u chorych z wartością wskaźnika ISS>34 i korelowały dodatnio z występowaniem powikłań zakaźnych. Natomiast wartości IL8 w V dobie, również korelujące z zakażeniami były najwyższe u chorych po 60-tym roku życia. Może to prowadzić do wniosku, iż chorzy w starszym wieku i z ISS>34 są wyjściowo najbardziej narażeni na powikłania infekcyjne oraz wymagają szeroko pojmowanych działań profilaktycznych.

3. Fagocytoza i „wybuch tlenowy”

We wczesnej fazie odpowiedzi na uraz główną rolę wśród komórek układu odpornościowego odgrywają granulocyty obojętnochłonne. Komórki te w ciągu pierwszych czterech dni stanowią pierwszą i najważniejszą linię obrony przeciwko drobnoustrojom oraz są odpowiedzialne za usuwanie z tkanek obcych substancji i uszkodzonych i martwych komórek. Wydzielają też różne substancje, które mają na celu niszczenie mikroorganizmów, w tym reaktywne formy tlenu. Zwane są one mikrofagami z racji zdolności do fagocytozy i stosunkowo niewielkich rozmiarów. Począwszy od czwartej doby od urazu narasta rola i znaczenie monocytów, a właściwie ich form aktywnych fagocytarnie, czyli makrofagów. Przejmują one funkcje obrony przed zakażeniem i kontynuują eliminację uszkodzonych komórek [21, 33, 37].

Prowadzono liczne badania związane z funkcją limfocytów w reakcji zapalnej będącej odpowiedzią na uraz. We wczesnej fazie po urazie, komórki te odpowiedzialne są za jej modulację. Natomiast neutrofile i monocyty stanowią efekторы wspólnych oddziaływań substancji wydzielanych przez uszkodzone komórki, śródbłonek, limfocyty, cytokin, białek „ostrej fazy”, a także hormonów. To one odpowiedzialne są za ostateczną eliminację mikroorganizmów i martwych tkanek. Zaburzenie ich funkcji w zakresie fagocytozy może doprowadzić do obniżenia odporności, a dysfunkcje w produkcji aktywnych form tlenu również do powiększenia uszkodzeń przez ich negatywne oddziaływanie na jeszcze zdrowe tkanki [21, 33, 37]. Dlatego też w swoim badaniu skupiłam się na ocenie tych funkcji. W trakcie analizy wyników fluorescencyjnej cytometrii przepływowej zauważyłam, iż analizowanie aktywności neutrofilów i monocytów razem, jak i każdej z grup osobno daje bardzo zbliżone wyniki. Zatem dla lepszego zobrazowania całkowitej „zdolności fagocytarnej” organizmu przedstawiłam wyniki dla całej grupy fagocytów.

U chorych po ciężkich urazach, w tym mnogich, przeprowadzono pojedyncze badania dotyczące funkcji neutrofilii. Stwierdzono nieprawidłowości w migracji tych komórek do miejsca uszkodzenia spowodowane głównie faktem, iż po wyczerpaniu puli dojrzałych komórek następował wyrzut ze szpiku komórek niedojrzałych, które nie były w stanie reagować prawidłowo na substancje modulujące ich funkcję – np. nie posiadały receptorów dla IL8. Dodatkowo, w innych pracach stwierdzono zaburzenia w wydzielaniu substancji aktywnych (leukotrienów, elastazy i innych.) oraz aktywnych form tlenu z tych komórek. Wykazano również obniżoną podatność na apoptozę granulocytów obojętnochłonnych u chorych po urazie. Wszystkie te zjawiska świadczą o zaburzeniach funkcji tych komórek i mogą sugerować, iż dotyczyć one będą również fagocytozy i „wybuchu tlenowego”, czyli głównych mechanizmów obrony przed zakażeniami [44, 48, 51, 60].

W dotychczasowych badaniach oceniano aktywność fagocytozy i „wybuchu tlenowego” jedynie po urazach eksperymentalnych operacyjnych u zwierząt, po operacjach na jamie brzusznej oraz po oparzeniach [39, 45, 46, 64]. W badaniach u szczurów wykazano wzrost aktywności fagocytozy w ciągu pierwszych 48 h po operacji i następnie jej spadek. Podobnie zjawisko „wybuchu tlenowego” przebiegało z gwałtownym wzrostem aktywności w II dobie po zabiegu operacyjnym i następnym spadkiem [46]. U ludzi po operacjach brzusznych natomiast obserwowano obniżenie aktywności fagocytozy i „wybuchu tlenowego” w pierwszych dobach po laparotomii. W przypadku zabiegów laparoskopowych nie obserwowano zaburzeń tych funkcji, co potwierdza zalety zabiegów minimalnie inwazyjnych. Jednak w badaniach tych odnoszono się do przedoperacyjnych wartości badanych parametrów. O ile w przypadku badania na zwierzętach można założyć, iż przed zabiegiem były one zdrowe, to w przypadku chorych przygotowywanych do zabiegów na jamie brzusznej choroby, będące powodem interwencji chirurgicznej mogły pierwotnie wpływać na poziom fagocytozy i „wybuchu tlenowego” [64]. W przypadku obrażeń termicznych obniżenie aktywności funkcji komórek żernych obserwowano jedynie u chorych z rozwijającą się posocznicą. U chorych bez powikłań infekcyjnych nie stwierdzono zaburzeń fagocytozy i wybuchu tlenowego [44, 53]. W moich badaniach zauważyłam zbliżoną tendencję do badań na zwierzętach – czyli najwyższą aktywność fagocytozy w II dobie po urazie i następny jej spadek zarówno u chorych z obrażeniami mnogimi, jak i z pojedynczymi. Jednak parametry te były nadal niższe niż w grupie kontrolnej zdrowych ochotników. Co ciekawe, aktywność fagocytarna była niższa u chorych z obrażeniami pojedynczymi niż mnogimi. Wynik ten pokrywa się z obserwacjami z wcześniej opublikowanej pracy, która dotyczyła porównania

niewielkiej grupy pacjentów z MOC i z obrażeniami głowy, gdzie zaburzenia fagocytozy były bardziej nasilone u pacjentów z izolowanymi obrażeniami głowy niż z MOC, chociaż w tej drugiej grupie reagowała mniejsza procentowo liczba fagocytów [43]. W obu grupach chorych obserwowano natomiast obniżenie aktywności „wybuchu tlenowego” w porównaniu z grupą zdrowych ochotników zarówno w I, II i V dobie po urazie. W uprzednio opublikowanym badaniu stwierdzono mniejszą liczbę komórek aktywnych u chorych z MOC jak również z izolowanymi obrażeniami głowy niż w grupie osobników bez urazu. Jednakże aktywność „wybuchu tlenowego” była bardziej nasilona u chorych po urazie niż w kontrolnej grupie ochotników bez urazu. Zwiększenie liczebności grup badanej i kontrolnych wykazało jednak obniżenie wszystkich badanych parametrów „wybuchu tlenowego” u chorych po urazie w porównaniu do osobników zdrowych. Jedynie w przypadku stosowania stymulatora w postaci PMA (octan mirystynianu forbolu) stwierdzono obniżanie się badanych parametrów w analizowanym okresie. Obserwowano również iż supresja „wybuchu tlenowego” aktywowanego PMA jest większa u chorych z MOC niż z obrażeniami pojedynczymi. Jednak takiej różnicy nie stwierdziłam w reakcji na bakterie *E.coli*, co potwierdza wyniki poprzednio opublikowanej pracy dotyczącej małej grupy [43].

W dotychczasowych pracach nie analizowano funkcji fagocytów w zależności wieku chorych. W moim badaniu stwierdziłam jednak obniżenie funkcji fagocytarnej w I i V dobie z MOC u chorych po 60-tym roku życia, a w V dobie u chorych w starszym wieku po obrażeniach pojedynczych. Aktywność „wybuchu tlenowego” w grupie chorych z MOC była wyższa w V dobie u chorych po 60 tym i przed 35 rokiem życia niż pacjentów w średnim wieku. Podobne zmiany obserwowano u kobiet z MOC w V dobie po urazie w porównaniu z pacjentami płci męskiej, co pokrywa się częściowo z wynikami jedyne badania dotyczącego immunologicznych następstw urazów w zależności od płci, gdzie u kobiet przed menopauzą immunosupresja po urazie była mniejsza niż w grupie mężczyzn w podobnym wieku [96]. U chorych z obrażeniami pojedynczymi nie stwierdzano takiej korelacji. Dodatkowo obserwowano niższą aktywność fagocytów w I dobie po urazie u kobiet z pojedynczymi obrażeniami, natomiast w grupie chorych z MOC nie występowały różnice związane z płcią.

W badaniach dotyczących urazu operacyjnego stwierdzano znacznie większe nasilenie zaburzeń funkcji fagocytów po rozleglejszych zabiegach, z większym uszkodzeniem tkanek [39, 46, 64]. Podobnie, badania u chorych po urazach dotyczące wydzielania różnego rodzaju substancji z neutrofilów wykazywały zaburzenia tych funkcji zależnie od ciężkości obrażeń

[97]. W moim badaniu stwierdziłam znaczne obniżenie aktywności fagocytozy w I i V dobie po urazie u pacjentów z ISS >34. Natomiast parametry „wybuchu tlenowego” były w tej grupie wyższe, co koreluje z wynikami dotyczącymi wydzielania substancji utleniających z neutrofilów. W grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi nie wykazano zależności parametrów fagocytozy i „wybuchu tlenowego” od ciężkości obrażeń.

We wczesnej fazie po urazie klatki piersiowej obserwowano znaczną migrację granulocytów obojętnochłonnych do płuc i ich nadmierną aktywację mogącą prowadzić do ARDS. Jednocześnie kompensacyjnie następował „wyrzut” niedojrzałych neutrofilów do krwi chorych. Chociaż w badaniach tych nie oceniano jednoznacznie funkcji fagocytarnej i „wybuchu tlenowego” u pacjentów po urazach klatki piersiowej, pośrednio mogą one świadczyć o zaburzeniach funkcji fagocytów przy takich obrażeniach [51]. W mojej pracy stwierdziłam obniżenie funkcji komórek żernych w ciągu pierwszych 24h od urazu u chorych, u których obrażenia klatki piersiowej były składnikiem MOC. Podobnie, wykazywano znaczną migrację i hiperaktywację neutrofilów i makrofagów w obrębie jamy otrzewnej w przypadku różnego rodzaju uszkodzeń jamy brzusznej. Stwierdzono, iż u pacjentów z obrażeniami brzucha i miednicy w zespole MOC funkcje fagocytów były znacznie upośledzone w V dobie po urazie. Natomiast w grupie chorych po izolowanym urazie zaobserwowano wyższe parametry fagocytozy u chorych po urazach głowy niż w innych obrażeniach pojedynczych. Jednocześnie obniżenie funkcji komórek żernych występowało u chorych z obrażeniami układu ruchu. Trzeba jednak ponownie zaznaczyć, że w każdym przypadku parametry te były niższe niż u osobników zdrowych. Wyniki dotyczące kilku chorych z izolowanymi obrażeniami głowy pokrywają się z wcześniej opublikowanym badaniami dotyczącymi funkcji fagocytów u chorych po urazach głowy.

Obrażenia głowy znacznie intensywniej wpływają na układ odpornościowy organizmu niż obrażenia o podobnej ciężkości dotyczące innych narządów. Wykazano znaczne zaburzenia funkcji neutrofilów po urazach głowy [41, 98]. W opublikowanej wcześniej pracy dotyczącej obrażeń czaszkowo-mózgowych stwierdzono obniżenie aktywności „wybuchu tlenowego” w pierwszych dniach po urazie [98]. Podobnie, w obecnym badaniu w chorych z obrażeniami głowy w zespole MOC obserwowałam mniejszą aktywność „wybuchu tlenowego” w I dobie po urazie. W obrażeniach jamy brzusznej i po zabiegach laparotomii obserwowano nadmierną aktywność granulocytów obojętnochłonnych skutkujące często zwiększeniem uszkodzenia tkanek przez wydzielane z neutrofilów substancje, w tym reaktywne formy tlenu [39, 46, 64]. W niniejszym badaniu u chorych z obrażeniami jamy brzusznej

w zespole MOC również stwierdzono zwiększoną aktywność „wybuchu tlenowego” w pierwszych dniach po urazie. W grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi nie wykazano natomiast zależności badanych parametrów „wybuchu tlenowego” od lokalizacji doznanych uszkodzeń. Może to wynikać z faktu, iż liczba chorych z poszczególnymi rodzajami obrażeń w tej grupie kontrolnej była niewielka.

W mojej pracy zaobserwowano interesującą reakcję układu immunologicznego chorych z obrażeniami mnogimi na stosowanie przetoczeń preparatów krwi. Po takich procedurach wzrastała znacząco liczba komórek aktywnych fagocytarnie, jednak ich aktywność przeciwbakteryjna była statystycznie znamienne upośledzona. Podobnego zjawiska nie obserwowano natomiast w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi. Być może wynika to z faktu, iż w przypadku MOC stosowano większe objętości preparatów krwi u poszczególnych chorych niż u pacjentów z obrażeniami izolowanymi. Nie odnotowano wpływu stosowania preparatów krwi na „wybuch tlenowy” w żadnej z grup. W dotychczasowych badaniach dotyczących wpływu przetoczeń na układ odpornościowy wykazywano obniżenie aktywności komórek żernych, jednak ich wpływ na podatność na zakażenia nie został ostatecznie udowodniony [80, 94].

Zabieg operacyjny, jak każdy uraz, uruchamia reakcję zapalną i modyfikuje funkcje komórek żernych. W niniejszej pracy nie wykazano jednak wpływu czasu przeprowadzenia pierwszego zabiegu operacyjnego na aktywności fagocytozy i „wybuchu tlenowego”. Prawdopodobnie wynika to z ograniczenia zarówno ilości komórek immunoaktywnych, jak i ich możliwości. Pierwotny ciężki uraz może na tyle modyfikować ich funkcję, że dodatkowe obrażenia nie mogą już nasilić tych zaburzeń.

Zaburzenia funkcji komórek żernych jako efektorów reakcji obronnej organizmu przeciwko mikroorganizmom prowadzą do zwiększonej podatności na infekcje. U chorych po oparzeniach obserwowano zaburzenia funkcji fagocytów u chorych, u których wystąpiła posocznica [44, 45, 53]. W moim badaniu nie stwierdziłam zależności występowania powikłań zakaźnych od aktywności fagocytozy. Upośledzenie mechanizmów „wybuchu tlenowego” w pierwszej dobie po urazie u chorych z obrażeniami mnogimi natomiast wyraźnie wpływało na występowanie powikłań infekcyjnych. Trzeba zauważyć, że parametry „wybuchu tlenowego” w I dobie po urazie były niższe u chorych z obrażeniami głowy w zespole MOC, co sugeruje większą podatność na infekcje w tej grupie pacjentów.

U chorych z obrażeniami pojedynczymi nie stwierdziłam wpływu zaburzeń „wybuchu tlenowego” na występowanie zakażeń. Jednak grupa ta była jedynie kontrolą i może być zbyt mała dla takiej analizy.

4. Procedury elektywne – „timing” u chorych po urazie

Po wielu latach dyskusji dotyczącej postępowania z chorymi z mnogimi obrażeniami ciała duże randomizowane badania wykazały, że chirurgiczną strategią leczniczą jednoznacznie poprawiającą rokowanie u tych chorych jest „damage control”. W sytuacji tej ważnym problemem stało się podejmowanie decyzji o wykonaniu zabiegów tzw. elektywnych - często procedur ortopedycznych związanych z ostatecznym zaopatrzeniem złamań i innych uszkodzeń układu ruchu. Większość autorów zgadza się, że najkorzystniejszym dla przeprowadzenia tych zabiegów okresem jest czas między V i X dobą od urazu [24, 27, 29, 30]. Moje badanie w dużej mierze potwierdza tę rekomendację, gdyż najbardziej nasilone zaburzenia funkcji układu immunologicznego obserwowałam w pierwszych dwóch dobach po urazie. Jednak w V dobie nadal układ immunologiczny chorych po ciężkich urazach nie jest w pełni sprawny. Należy więc podejście to indywidualizować i zachować szczególną ostrożność u chorych w starszym wieku, z ISS>34, z obrażeniami klatki piersiowej oraz z wysokim CRP w II dobie po urazie. Wielu badaczy podaje, że ocena poziomów IL6 może ułatwić podjęcie takiej decyzji. Moje wyniki potwierdzają znaczenie badania IL6 dla oceny stanu immunologicznego chorych z MOC. Jednak korelacja tego parametru z CRP wydaje się na tyle duża, że samo badanie CRP wydaje się być wystarczające dla podejmowania zabiegów operacyjnych w najbardziej optymalnym czasie.

VI WNIOSKI

1. Ciężki uraz powodujący mnogie obrażenia ciała (MOC) znacząco wpływa na przebiegu reakcji zapalnej. W zakresie badanych podstawowych parametrów stanu zapalnego ciężki uraz prowadzi do podwyższenia wartości CRP, OB, zwiększenia liczby krążących leukocytów, a także podwyższenia poziomów cytokin prozapalnych – IL6 i IL8 oraz głównej cytokiny przeciwzapalnej, tj. IL10. Zmiany te są znacznie bardziej nasilone u chorych z MOC niż u poszkodowanych z obrażeniami pojedynczymi. Aktywność komórek żernych będących ostatecznymi efektorami procesu zapalnego jest znacząco obniżona po urazie. Aktywność granulocytów obojętnochłonnych i monocytów zarówno w zakresie fagocytozy, jak i „wybuchu tlenowego” jest zbliżona u chorych z MOC i z pojedynczymi obrażeniami ciała.
2. Znaczna ciężkość obrażeń wyrażona wysoką wartością wskaźnika ciężkości obrażeń ISS (ISS>34) nasila znacząco zaburzenia przebiegu reakcji zapalnej, zwłaszcza w zakresie wydzielania cytokin (IL6, IL10), których wyższe poziomy wskazują na zwiększone ryzyko wystąpienia powikłań zakaźnych. U osób w wieku powyżej 60 lat zwiększone wydzielanie IL8 skutkuje wyższą aktywnością „wybuchu tlenowego”; jednak pomimo tego wzrasta ryzyko powikłań infekcyjnych. Obrażenia różnych anatomicznych okolic ciała sprzyjają rozlicznym zaburzeniom odporności. Wykazano, że współistniejące obrażenia układu ruchu i jamy brzusznej szczególnie skutkują zwiększoną podatnością na zakażenia.
3. Najbardziej nasilone zaburzenia wybranych parametrów funkcji układu immunologicznego u chorych po ciężkim urazie, zwłaszcza z MOC, występują w pierwszych dwóch dobach po urazie i w tym okresie pełne uzasadnienie mają jedynie operacje ratujące życie. Jednak i w V dobie układ odpornościowy nadal nie jest jeszcze w pełni sprawny. Przy podejmowaniu decyzji o leczeniu operacyjnym należy zachować szczególną ostrożność u chorych w starszym wieku, z wartością wskaźnika ISS>34, ze współistniejącymi obrażeniami narządu ruchu i brzucha oraz z wysokim poziomem CRP w II dobie po urazie. Ocena wybranych parametrów stanu odpornościowego u chorych po urazie wydaje się wskazywać na to, że najkorzystniejszym momentem dla przeprowadzenia procedur elektwnych

(zabiegi ortopedyczne, rekonstrukcje tkanek miękkich itp.) jest okres po V dobie od urazu. Monitorowanie poziomu IL6 i CRP może być przydatne przy podejmowaniu decyzji o przeprowadzeniu zabiegów elektywnych w optymalnym czasie od urazu.

4. Wykazano korelacje wartości CRP, IL6 i IL8, OB, parametrów „wybuchu tlenowego” z występowaniem pourazowych powikłań infekcyjnych. Najbardziej przydatnymi są pomiary poziomu CRP w II i IL6 w I dobie po urazie. Pomiar CRP w II dobie po urazie może być przydatnym parametrem predykcyjnym dla występowania powikłań infekcyjnych – zakażenia miejsca operowanego i zapalenia płuc. U chorych z MOC wartość CRP powyżej 154,4 mg/l przepowiada powikłania zakaźne z czułością 50% i specyficznością 93,5%, a u pacjentów z obrażeniami izolowanymi wartość CRP powyżej 68,76 mg/l z czułością 83% i specyficznością 92,9%.

STRESZCZENIE:

„Ocena wybranych parametrów reakcji zapalnej u chorych z mnogimi obrażeniami ciała”

W następstwie urazu dochodzi do przerwania barier ochronnych organizmu oraz destrukcji tkanek i komórek gospodarza. W odpowiedzi następują zmiany, których celem jest przywrócenie homeostazy, prawidłowych funkcji, zapobiegnięcie infekcji oraz pobudzenie odbudowy zniszczonych tkanek. Ciężki uraz powodujący mnogie obrażenia ciała (MOC) sprzyja szczególnie nasilonej uogólnionej reakcji zapalnej, która czasami może prowadzić do groźnych powikłań, a nawet zagrożenia życia.

W badaniu oceniano wybrane parametry reakcji zapalnej u chorych z MOC, których monitorowanie może przyczynić się do identyfikacji negatywnych czynników rokowniczych oraz zagrożeń, a także wyboru właściwego czasu leczenia („timing”), oraz podejmowania stosownych procedur chirurgicznych.

Do analizy włączono 50 chorych z MOC leczonych w Klinice Chirurgii Urazowej GUMed. Stan ciężkości obrażeń oceniano przy pomocy powszechnie stosowanych liczbowych skal (AIS, ISS, RTS, GCS). Grupy kontrolne stanowili ochotnicy bez urazu (20 osób) oraz poszkodowani z pojedynczymi obrażeniami ciała (20osób).

Od pacjentów pobierano próbki krwi w I, II oraz V dobie po urazie. Analizowano następujące parametry: poziom leukocytów, OB, CRP, poziom cytokin: IL1, IL6, IL8, IL12, TNF, funkcje komórek żernych – aktywność fagocytozy oraz „wybuchu tlenowego”. Dla oceny poziomu cytokin i aktywności fagocytów stosowano fluorescencyjną cystometrię przepływową.

Uzyskane wyniki wskazują na statystycznie istotne różnice w wartościach większości badanych parametrów, głównie w zakresie CRP, IL6, IL8, IL10 oraz na zmienioną funkcję komórek żernych w grupie badanej z MOC w porównaniu z grupami kontrolnymi we wszystkich badanych punktach czasowych. Zaobserwowano korelację poziomu CRP oraz poziomów IL6 i IL8 z ciężkością obrażeń oraz występowaniem powikłań infekcyjnych. Stwierdzono, iż w grupie chorych w wieku powyżej 60 lat w/w zaburzenia były bardziej

nasilone niż u młodszych osobników. Aktywność fagocytozy i „wybuchu tlenowego” w grupie chorych z MOC była obniżona w porównaniu z grupą ochotników bez urazu, ale wyższa lub na podobnym poziomie, co w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi, przy jednoczesnym wyższym poziomie cytokin pobudzających funkcje komórek żernych. Wykazano, że współistniejące obrażenia układu ruchu i jamy brzusznej szczególnie skutkują zwiększoną podatnością na zakażenia (zakażenie ran urazowych, miejsca operowanego i zapalenia płuc).

Najbardziej nasilone zaburzenia wybranych parametrów funkcji układu odpornościowego u chorych po ciężkim urazie, zwłaszcza z MOC, występują w pierwszych dwóch dobach; jednak i w V dobie układ odpornościowy nadal nie jest jeszcze w pełni sprawny. Przy podejmowaniu decyzji o leczeniu operacyjnym należy zachować szczególną ostrożność u chorych w starszym wieku, z wartością wskaźnika ISS>34, z obrażeniami narządu ruchu i brzucha oraz z wysokim poziomem CRP w II dobie po urazie.

Wykazano korelacje poziomów CRP, IL6 i IL8, OB, parametrów „wybuchu tlenowego” z występowaniem pourazowych powikłań infekcyjnych. Najbardziej przydatnymi są pomiary poziomu CRP w II i IL6 w I dobie po urazie.

ABSTRACT

"Analysis of the selected parameters of inflammatory response in patients with multiple injuries"

Injury causes damage of protective barriers of the organism and destruction of host tissues and cells. In response, changes aimed at restoring homeostasis, normal function, prevent infection and stimulate the recovery of damaged tissue. Severe trauma resulting in multiple injuries (MI) favours particularly severe systemic inflammatory response, which can sometimes lead to serious complications and even life-threat.

The study evaluated selected parameters of the inflammatory response in patients with MI, which monitoring can help to identify adverse prognostic factors and risks, as well as choosing the right time of treatment ("timing"), and taking appropriate surgical procedures.

A group of 50 patients with MI treated in the Department of Trauma Surgery MUG were included in the study. The severity of injury was assessed by means of the commonly used numerical scales (AIS, ISS, RTS, GCS). Control groups consisted of volunteers without injury (20 people) and patients with single injuries (20 persons).

Blood samples were collected from the patients in I, II and V day after trauma. The following parameters were analyzed: the level of leukocytes, ESR, CRP, level of cytokines: IL1, IL6, IL8, IL12, TNF, phagocytic cell function - the activity of the phagocytosis and "oxidative burst". For the evaluation of cytokine levels and activity of phagocytes fluorescence flow cytometry method was used.

The results showed statistically significant differences in the values of most of the analyzed parameters, mainly in the CRP, IL6, IL8, IL10 levels and changed phagocytic cell function in the study group with MI in comparison with the control groups at all examined time points. The correlation between CRP, IL6 and IL8 levels and the severity of injury as well as infectious complications was observed. In patients over 60 years old disorders

mentioned above were more severe than in younger individuals. The activity of phagocytosis and “oxidative burst” in patients with multiple injuries was reduced in comparison with subjects without injury, but higher or at similar level as in patients with single injuries, while higher cytokines levels that stimulate phagocytic cell function was determined. It has been shown that the combined musculoskeletal system and abdominal injuries particularly result in an increased susceptibility to infections (infection of traumatic wounds, surgical site and pneumonia).

The most severe disorders of selected parameters of immune system function in patients after severe trauma, especially with multiple injuries, appears in the first two days; however in the fifth day immune system is still not fully operational. While deciding about surgical treatment particular caution should be kept in elderly patients, with the ISS over 34, in patients with musculoskeletal and abdominal injuries as well as in victims with high CRP level in the second day after trauma.

Correlations of CRP, IL6 and IL8 levels, ESR, “oxidative burst” parameters with the incidence of posttraumatic infectious complications have been shown. But measurements of CRP level in the second and IL6 in the first day after trauma appear mostly predictive.

VII BIBLIOGRAFIA:

1. Brzeziński T. Historia Medycyny. IV ed. Warszawa: Wydawnictwo Lekarski PZWL, 2004.
2. Taylor BT. Wszystko, co chciałbyś wiedzieć o medycynie, ale boisz się zapytać. Warszawa: Medmedia, 2011.
3. Fu LKT. The origins of surgery. 1: From Prehistory to Renaissance.: *Ann Coll Surg*, 1999;127- 36.
4. Fu LKT. The origins of surgery. 2: From barbers to surgeons.: *Ann Coll Surg*, 2000;35-49.
5. Scott A, Khan KM, Cook JL, et al. What is "inflammation"? Are we ready to move beyond Celsus? *Br J Sports Med* 2004;38(3):248-9.
6. Fingerhut A, Bofart KD. Impact of trauma societies on the clinical care of polytrauma patients, 2012:223–29.
7. Butcher N, Balogh ZJ. The definition of polytrauma: the need for international consensus. *Injury* 2009;40 Suppl 4:S12-22 doi: 10.1016/j.injury.2009.10.032 [published Online First: Epub Date]].
8. Haas NP, Lindner T, Bail HJ. [Developments in polytrauma management. Priority-based strategy]. *Chirurg* 2007;78(10):894-901 doi: 10.1007/s00104-007-1397-2 [published Online First: Epub Date]].
9. Krettek C, Simon RG, Tscherne H. Management priorities in patients with polytrauma. *Langenbecks Arch Surg* 1998;383(3-4):220-7.
10. Giannoudis PV Editorial. Management of patients with multiple injuries: looking ahead to the future. *Injury* 2009;40 Suppl 4:S1-4 doi: 10.1016/j.injury.2009.10.030 [published Online First: Epub Date]].
11. Dimitirou R, Calori GM, Giannoudis PV. Polytrauma in the elderly: specific considerations and current concepts of management: *Eur J Trauma Emerg Surg*, 2011:539–48.
12. Gebhard F, Huber-Lang M. Polytrauma—pathophysiology and management principles: *Langenbecks Arch Surg*, 2008:825–31.
13. Brongel L, Lasek J, Słowiński K. Podstawy współczesnej chirurgii urazowej. 1 ed. Kraków: Krakowskie Wydawnictwo Medyczne, 2008.
14. Alexandrescu R, O'Brien SJ, Lecky FE. A review of injury epidemiology in the UK and Europe: some methodological considerations in constructing rates. *BMC Public Health* 2009;9:226 doi: 10.1186/1471-2458-9-226 [published Online First: Epub Date]].

15. Corso P, Finkelstein E, Miller T, et al. Incidence and lifetime costs of injuries in the United States. *Inj Prev* 2006;12(4):212-8 doi: 10.1136/ip.2005.010983 [published Online First: Epub Date]].
16. Eastman AL, Rosenbaum DH, Thal ER. *Epidemiology of Trauma*. Parkland Trauma Handbook , Third Edition. England: Mosby International Ltd., 2009.
17. Garlicki J, Paczkowski PM, Mikuła W. *Epidemiologia urazów jako problem III tysiąclecia*. 2000; 9.
18. Perl M, Huber-Lang M, Gebhard F. The influence of coagulation and inflammation research on the improvement of polytrauma care: *Eur J Trauma Emerg Surg*, 2012:231–39.
19. Yao YM, Redl H, Bahrami S, et al. The inflammatory basis of trauma/shock-associated multiple organ failure. *Inflamm Res* 1998;47(5):201-10.
20. Gebhard F, Huber-Lang M. Polytrauma--pathophysiology and management principles. *Langenbecks Arch Surg* 2008;393(6):825-31 doi: 10.1007/s00423-008-0334-2 [published Online First: Epub Date]].
21. Faist E, Wichmann MW. [Immunology in the severely injured]. *Chirurg* 1997;68(11):1066-70.
22. Lenz A, Franklin GA, Cheadle WG. Systemic inflammation after trauma. *Injury* 2007;38(12):1336-45 doi: 10.1016/j.injury.2007.10.003 [published Online First: Epub Date]].
23. Tien H, Chu PTY, Brennemann F. Causes of death following multiple trauma: *Current Orthopaedics*, 2004:304-10.
24. Klüter T, Lippross S, Oestern S, et al. [Operative treatment strategies for multiple trauma patients : early total care versus damage control]. *Chirurg* 2013;84(9):759-63 doi: 10.1007/s00104-013-2478-z [published Online First: Epub Date]].
25. Morley J, Kossygan K, Giannoudis PV. Damage control orthopaedics: a new concept in the management of the multiply injured patient: *Current Orthopaedics*, 2002:362-67.
26. Giannoudis PV, Giannoudi M, Stavlas P. Damage control orthopaedics: lessons learned. *Injury* 2009;40 Suppl 4:S47-52 doi: 10.1016/j.injury.2009.10.036 [published Online First: Epub Date]].
27. Nast-Kolb D, Ruchholtz S, Waydhas C, et al. [Management of polytrauma]. *Chirurg* 2006;77(9):861-72; quiz 73 doi: 10.1007/s00104-006-1231-2 [published Online First: Epub Date]].
28. Nast-Kolb D, Waydhas C, Ruchholtz S, et al. [Trauma care management]. *Chirurg* 2007;78(10):885-93 doi: 10.1007/s00104-007-1405-6 [published Online First: Epub Date]].

29. Stahel PF, Heyde CE, Wyrwich W, et al. [Current concepts of polytrauma management: from ATLS to "damage control"]. *Orthopade* 2005;34(9):823-36 doi: 10.1007/s00132-005-0842-5 [published Online First: Epub Date]].
30. Chak Wah K, Wai Man C, Janet Yuen Ha W, et al. Evolving frontiers in severe polytrauma management - refining the essential principles. *Malays J Med Sci* 2013;20(1):1-12.
31. Frink M, Zeckey C, Mommsen P, et al. Polytrauma management - a single centre experience. *Injury* 2009;40 Suppl 4:S5-11 doi: 10.1016/j.injury.2009.10.031 [published Online First: Epub Date]].
32. Wurmb T, Balling H, Frühwald P, et al. [Polytrauma management in a period of change: time analysis of new strategies for emergency room treatment]. *Unfallchirurg* 2009;112(4):390-9 doi: 10.1007/s00113-008-1528-3 [published Online First: Epub Date]].
33. Faist E, Schinkel C, Zimmer S. Update on the mechanisms of immune suppression of injury and immune modulation. *World J Surg* 1996;20(4):454-9.
34. Giannoudis PV, Pape HC. Trauma and immune reactivity: too much, or too little immune response? *Injury* 2007;38(12):1333-5 doi: 10.1016/j.injury.2007.10.007 [published Online First: Epub Date]].
35. Schlag G, Redl H. Mediators of injury and inflammation. *World J Surg* 1996;20(4):406-10.
36. Stahel PF, Smith WR, Moore EE. Role of biological modifiers regulating the immune response after trauma. *Injury* 2007;38(12):1409-22 doi: 10.1016/j.injury.2007.09.023 [published Online First: Epub Date]].
37. Giannoudis PV. Current concepts of the inflammatory response after major trauma: an update. *Injury* 2003;34(6):397-404.
38. Maier M, Geiger EV, Wutzel S et al. Role of Lung Contusions on Posttraumatic Inflammatory Response and Organ Dysfunction in Traumatized Patients: *Eur J Trauma Emerg Surg*, 2009:463-69.
39. Sido B, Teklote JR, Hartel M et al. Inflammatory response after abdominal surgery: Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology, 2004:439-54.
40. Tschoeke SK, Ertel W. Immunoparalysis after multiple trauma. *Injury* 2007;38(12):1346-57 doi: 10.1016/j.injury.2007.08.041 [published Online First: Epub Date]].
41. Morganti-Kossmann MC, Satgunaseelan L, Bye N, et al. Modulation of immune response by head injury. *Injury* 2007;38(12):1392-400 doi: 10.1016/j.injury.2007.10.005[published Online First: Epub Date]].

42. Gryglewski A, Majcher P, Szczepanik M. [Immunological aspects of trauma]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2006;60:192-200.
43. Marks W, Gołabek-Dropiewska K, Bryl E et al. Looking for the immunological “time window” for the surgical intervention in patients with polytrauma: *Centr Eur J Immunol*, 2013:530-36.
44. Bjerknes R, Vindenes H, Laerum OD. Altered neutrophil functions in patients with large burns. *Blood Cells* 1990;16(1):127-41; discussion 42-3.
45. Sachse C, Wolterink G, Pallua N. Neutrophil intracellular pH and phagocytosis after thermal trauma. *Clin Chim Acta* 2000;295(1-2):13-26.
46. Shijo H, Iwabuchi K, Hosoda S, et al. Evaluation of neutrophil functions after experimental abdominal surgical trauma. *Inflamm Res* 1998;47(2):67-74.
47. Cederberg D, Siesjö P. What has inflammation to do with traumatic brain injury? *Childs Nerv Syst* 2010;26(2):221-6 doi: 10.1007/s00381-009-1029-x[published Online First: Epub Date]].
48. Almond W, Stanley J, Pallister I. The impact of major trauma and fracture surgery upon neutrophil and monocyte leucopoiesis, maturation and function: *Injury*, 2006:15.
49. Hranjec T, Swenson BR, Dossett LA, et al. Diagnosis-dependent relationships between cytokine levels and survival in patients admitted for surgical critical care. *J Am Coll Surg* 2010;210(5):833-44, 45-6 doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2009.12.042 [published Online First: Epub Date]].
50. Maier B, Lefering R, Lehnert M, et al. Early versus late onset of multiple organ failure is associated with differing patterns of plasma cytokine biomarker expression and outcome after severe trauma. *Shock* 2007;28(6):668-74.
51. Bhatia RK, Pallister I, Dent C, et al. Enhanced neutrophil migratory activity following major blunt trauma. *Injury* 2005;36(8):956-62 doi: 10.1016/j.injury.2005.03.009 [published Online First: Epub Date]].
52. Mimasaka S, Funayama M, Hashiyada M, et al. Significance of levels of IL-6 and IL-8 after trauma: a study of 11 cytokines post-mortem using multiplex immunoassay. *Injury* 2007;38(9):1047-51 doi: 10.1016/j.injury.2007.02.045 [published Online First: Epub Date]].
53. Walsh DS, Thavichaigarn P, Pattanapanyasat K, et al. Characterization of circulating monocytes expressing HLA-DR or CD71 and related soluble factors for 2 weeks after severe, non-thermal injury. *J Surg Res* 2005;129(2):221-30 doi: 10.1016/j.jss.2005.05.003 [published Online First: Epub Date]].
54. BD. BD™ Cytometric Bead Array (CBA): BD, 2007.

55. Pharma O. Operators Manual PHAGOTEST, 2012.
56. Goedken M, De Guise S. Flow cytometry as a tool to quantify oyster defence mechanisms. *Fish Shellfish Immunol* 2004;16(4):539-52 doi: 10.1016/j.fsi.2003.09.009 [published Online First: Epub Date]].
57. Gu BJ, Sun C, Fuller S, et al. A quantitative method for measuring innate phagocytosis by human monocytes using real-time flow cytometry. *Cytometry A* 2014;85(4):313-21 doi: 10.1002/cyto.a.22400 [published Online First: Epub Date]].
58. Lehmann AK, Sornes S, Halstensen A. Phagocytosis: measurement by flow cytometry: *Journal of Immunological Methods*, 2000:Journal of Immunological Methods.
59. Pharma O. Operators Manual BURSTTEST, 2012.
60. Richardson MP, Ayliffe MJ, Helbert M, et al. A simple flow cytometry assay using dihydrorhodamine for the measurement of the neutrophil respiratory burst in whole blood: comparison with the quantitative nitrobluetetrazolium test. *J Immunol Methods* 1998;219(1-2):187-93.
61. Naoyuki H, Yu C, Christian R, et al. Whole-Blood Assay to Measure Oxidative Burst and Degranulation of Neutrophils for Monitoring Trauma Patients, 2005:379-88.
62. Gryglewski A, Szczepanik M, Majcher P, et al. [The influence of trauma on immunological response (the role of Tgammadelta+ lymphocytes)]. *Przegl Lek* 2005;62(12):1465-7.
63. van Grienvsen M, Krettek C, Pape HC. Immune Reactions after Trauma: *Eur J Trauma*, 2003:181-92.
64. Dunker MS, Ten Hove T, Bemelman WA, et al. Interleukin-6, C-reactive protein, and expression of human leukocyte antigen-DR on peripheral blood mononuclear cells in patients after laparoscopic vs. conventional bowel resection: a randomized study. *Dis Colon Rectum* 2003;46(9):1238-44 doi: 10.1097/01.DCR.0000084412.82884.FC [published Online First: Epub Date]].
65. O'Sullivan ST, O'Connor TP. Immunosuppression following thermal injury: the pathogenesis of immunodysfunction. *Br J Plast Surg* 1997;50(8):615-23.
66. Reikerås O. Immune depression in musculoskeletal trauma. *Inflamm Res* 2010;59(6):409-14 doi: 10.1007/s00011-010-0167-7 [published Online First: Epub Date]].
67. Kiran DN, Desai R. Estimation of C-reactive Protein Associated with Mandibular Fracture. *J Maxillofac Oral Surg* 2012;11(1):67-71 doi: 10.1007/s12663-011-0278-x [published Online First: Epub Date]].

68. Sedlár M, Kudrnová Z, Erhart D, et al. Older age and type of surgery predict the early inflammatory response to hip trauma mediated by interleukin-6 (IL-6). *Arch Gerontol Geriatr* 2010;51(1):e1-6 doi: 10.1016/j.archger.2009.06.006 [published Online First: Epub Date]].
69. Jou JM, Lewis SM, Briggs C, et al. ICSH review of the measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol* 2011;33(2):125-32 doi: 10.1111/j.1751-553X.2011.01302.x [published Online First: Epub Date]].
70. Bowski H. Podstawowe laboratoryjne badania hematologiczne. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 1995.
71. Colombet I, Pouchot J, Kronz V, et al. Agreement between erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in hospital practice. *Am J Med* 2010;123(9):863.e7-13 doi: 10.1016/j.amjmed.2010.04.021 [published Online First: Epub Date]].
72. Feldman M, Aziz B, Kang GN, et al. C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate discordance: frequency and causes in adults. *Transl Res* 2013;161(1):37-43 doi: 10.1016/j.trsl.2012.07.006 [published Online First: Epub Date]].
73. Rainer TH, Chan TY, Cocks RA. Do peripheral blood counts have any prognostic value following trauma? *Injury* 1999;30(3):179-85.
74. Rovlias A, Kotsou S. Classification and regression tree for prediction of outcome after severe head injury using simple clinical and laboratory variables. *J Neurotrauma* 2004;21(7):886-93 doi: 10.1089/0897715041526249 [published Online First: Epub Date]].
75. Santucci CA, Purcell TB, Mejia C. Leukocytosis as a predictor of severe injury in blunt trauma. *West J Emerg Med* 2008;9(2):81-5.
76. Akköse S, Bulut M, Armağan E, et al. [Does the leukocyte count correlate with the severity of injury?]. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2003;9(2):111-3.
77. Chang DC, Cornwell EE, Phillips J, et al. Early leukocytosis in trauma patients: what difference does it make? *Curr Surg* 2003;60(6):632-5 doi: 10.1016/j.cursur.2003.07.011 [published Online First: Epub Date]].
78. Egger G, Aigner R, Glasner A, et al. Blood polymorphonuclear leukocyte migration as a predictive marker for infections in severe trauma: comparison with various inflammation parameters. *Intensive Care Med* 2004;30(2):331-4 doi: 10.1007/s00134-003-2111-6 [published Online First: Epub Date]].
79. Bauer C, Ketter R, Silomon M. Einfluss moderner Laborparameter auf das klinische Management des polytraumatisierten Patienten: *Intensivmed*, 2008:64–69.
80. Brand A. Immunological aspects of blood transfusions. *Transpl Immunol* 2002;10(2-3):183-90.

81. Alaedeen DI, Queen AL, Leung E, et al. C-Reactive protein-determined injury severity: length of stay predictor in surgical infants. *J Pediatr Surg* 2004;39(12):1832-4.
82. Bengzon J, Grubb A, Bune A, et al. C-reactive protein levels following standard neurosurgical procedures. *Acta Neurochir (Wien)* 2003;145(8):667-70; discussion 70-1 doi: 10.1007/s00701-003-0083-5 [published Online First: Epub Date]].
83. Mimoz O, Benoist JF, Edouard AR, et al. Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med* 1998;24(2):185-8.
84. Fransen EJ, Maessen JG, Elenbaas TW, et al. Enhanced preoperative C-reactive protein plasma levels as a risk factor for postoperative infections after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 1999;67(1):134-8.
85. Wright EH, Khan U. Serum complement-reactive protein (CRP) trends following local and free-tissue reconstructions for traumatic injuries or chronic wounds of the lower limb. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2010;63(9):1519-22 doi: 10.1016/j.bjps.2009.08.019 [published Online First: Epub Date]].
86. Brunengraber LN, Robinson AV, Chwals WJ. Relationship of serum C-reactive protein and blood glucose levels with injury severity and patient morbidity in a pediatric trauma population. *J Pediatr Surg* 2009;44(5):992-6 doi: 10.1016/j.jpedsurg.2009.01.043 [published Online First: Epub Date]].
87. Hildebrand F, Frink M, Mommsen P et al. Bedeutung des Immunmonitorings in der unfallchirurgischen Intensivmedizin: *Trauma Berufskrankh*, 2007:196–200.
88. Kalabalikis P, Papazoglou K, Gouriotis D, et al. Correlation between serum IL-6 and CRP levels and severity of head injury in children. *Intensive Care Med* 1999;25(3):288-92.
89. Waydhas C, Flohe S. [Intensive medicine criteria for operability]. *Unfallchirurg* 2005;108(10):866-71 doi: 10.1007/s00113-005-0991-3 [published Online First: Epub Date]].
90. Frank J, Maier M, Koenig J et al. Circulating Inflammatory and Metabolic Parameters to Predict Organ Failure after Multiple Trauma: *European Journal of Trauma*, 2002:333-39.
91. Fransen E, Maeesen J, Elenbaas T et al. Increased Preoperative C-Reactive Protein Plasma Levels as a Risk Factor for Postoperative Infections: *Ann Thorac Surg*, 1999:134-38.
92. Seekamp A, van Griensven M, Lehmann U et al. Serum IL-6, IL-8 and IL-10 Levels in Multiple Trauma Compared to Traumatic Brain Injury and Combined Trauma: *European Journal of Trauma*, 2002:183-89.
93. Matinlauri I. [Immunological aspects of blood transfusion preparations]. *Duodecim* 2004;120(7):867-75.

94. Flohé S, Kobbe P, Nast-Kolb D. Immunological reactions secondary to blood transfusion. *Injury* 2007;38(12):1405-8 doi: 10.1016/j.injury.2007.09.028 [published Online First: Epub Date].
95. Lannan KL, Sahler J, Spinelli SL, et al. Transfusion immunomodulation--the case for leukoreduced and (perhaps) washed transfusions. *Blood Cells Mol Dis* 2013;50(1):61-8 doi: 10.1016/j.bcmd.2012.08.009 [published Online First: Epub Date].
96. Choudhry MA, Bland KI, Chaudry IH. Trauma and immune response--effect of gender differences. *Injury* 2007;38(12):1382-91 doi: 10.1016/j.injury.2007.09.027 [published Online First: Epub Date].
97. Köller M, Wick M, Muhr G. Decreased leukotriene release from neutrophils after severe trauma: role of immature cells. *Inflammation* 2001;25(1):53-9 .
98. Marks W, Gołabek-Dropiewska K, Bryl E, et al. Immunomonitoring in patients with early moderate and severe head trauma: *Centr Eur J Immunol*, 2013:494-99.

VIII ANEKS

Wyniki badań przeprowadzonych w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała

1. Podstawowe parametry reakcji zapalnej

1.1. Ocena zależności podstawowych parametrów stanu zapalnego od płci i wieku pacjentów

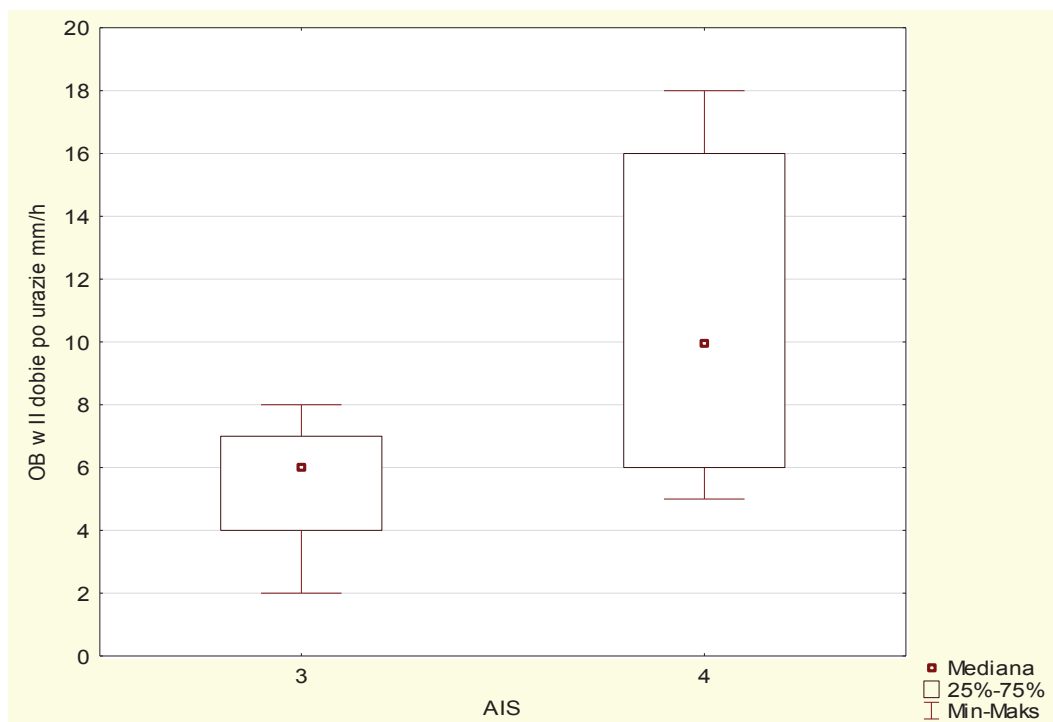
W przeprowadzonym badaniu nie wykazano różnic statystycznie znamiennych w zależności od płci w zakresie wartości leukocytozy, CRP i OB w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (Gb).

Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w zależności od wieku w zakresie wartości leukocytozy i CRP w poszczególnych dobach od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (Gb).

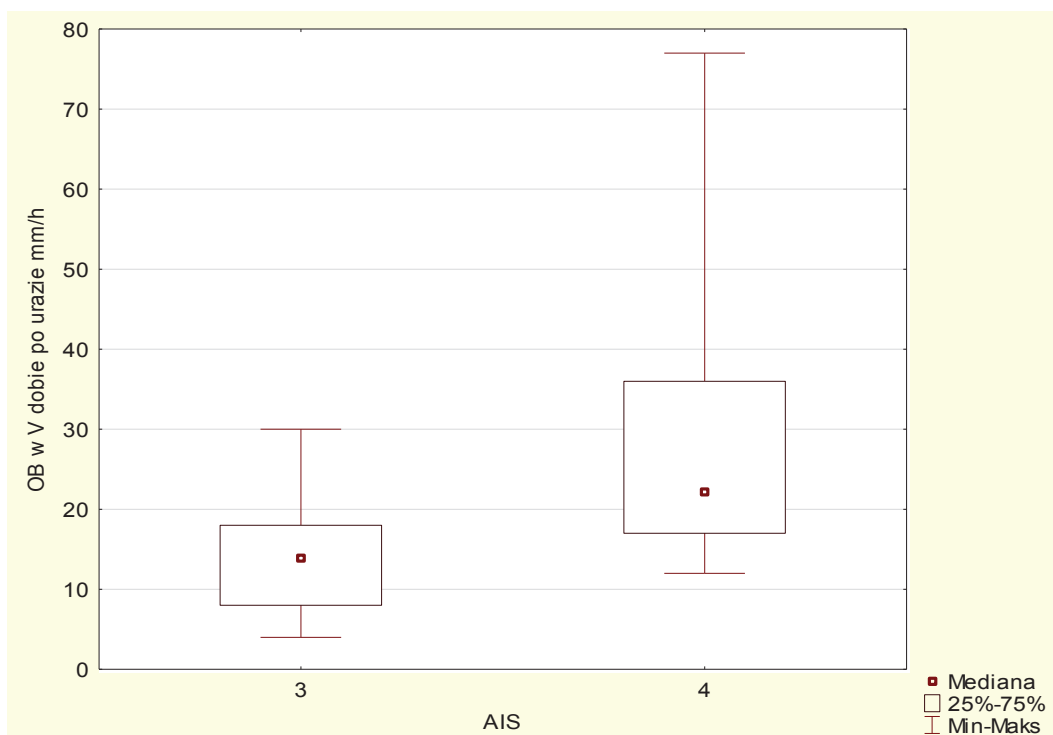
Nie stwierdzono różnic statystycznych w zakresie wartości OB w zależności od wieku w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała G2.

1.2. Ocena zależności podstawowych parametrów reakcji zapalnej od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS

W grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi G2 stwierdzono wartości AIS 3 lub 4. Nie wykazano korelacji wartości leukocytozy i CRP, a liczbą punktów w skali AIS w tej grupie. Wykazano istotną statystycznie dodatnią zależność wartości OB w II i V dobie od urazu, a liczbą punktów w skali AIS (wykresy 1a,2a).



Wykres 1a. Poziom OB w II dobie po urazie u chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) w poszczególnych grupach w zależności od wartości AIS

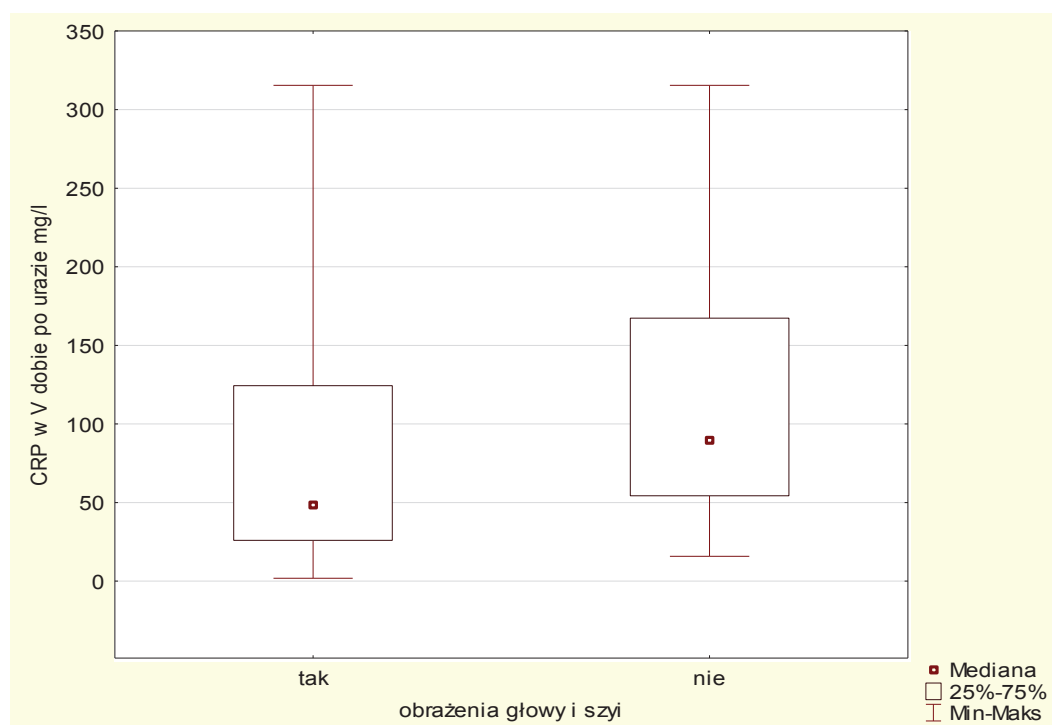


Wykres 2a. Poziom OB w V dobie po urazie u chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) w poszczególnych grupach w zależności od wartości AIS

Nie wykazano statystycznie znamiennej zależności pomiędzy wartościami leukocytozy, OB i CRP w poszczególnych dobach, a liczbą punktów w skalach RTS i GCS u chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2).

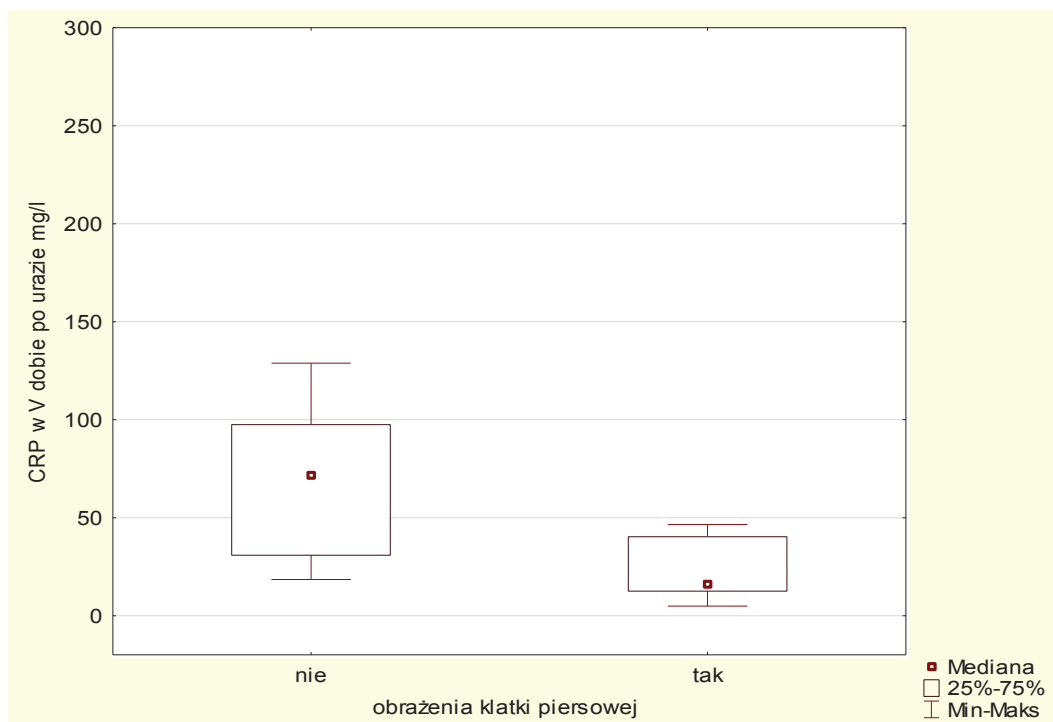
1.3. Zależność pomiędzy parametrami stanu zapalnego, a lokalizacją obrażeń oraz występowaniem chorób dodatkowych.

W grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) wykazano również korelację wartości CRP w II dobie po urazie, a obrażeniami głowy i szyi (wykres 3a). Nie stwierdzono zależności pomiędzy wartościami CRP w pozostałych dobach, liczbą leukocytów i OB, a obrażeniami głowy i szyi.



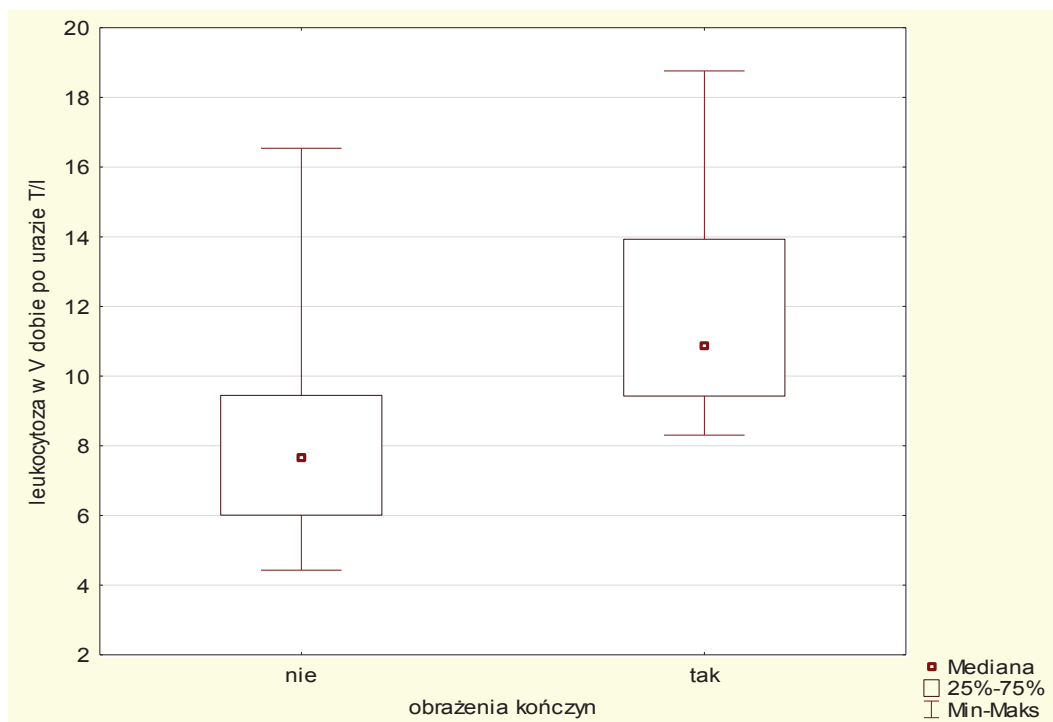
Wykres 3a. CRP w II dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami głowy i bez takich obrażeń

Wykazano ujemną korelację wartości CRP w V dobie po urazie i obrażeniami klatki piersiowej (wykres 4a). Nie stwierdzono zależności pomiędzy wartościami CRP w pozostałych dobach, liczbą leukocytów i OB, a obrażeniami klatki piersiowej. Nie wykazano zależności pomiędzy wartościami podstawowych parametrów zapalnych w poszczególnych dobach, a obrażeniami jamy brzusznej i okolic „wstrząsogennych”.

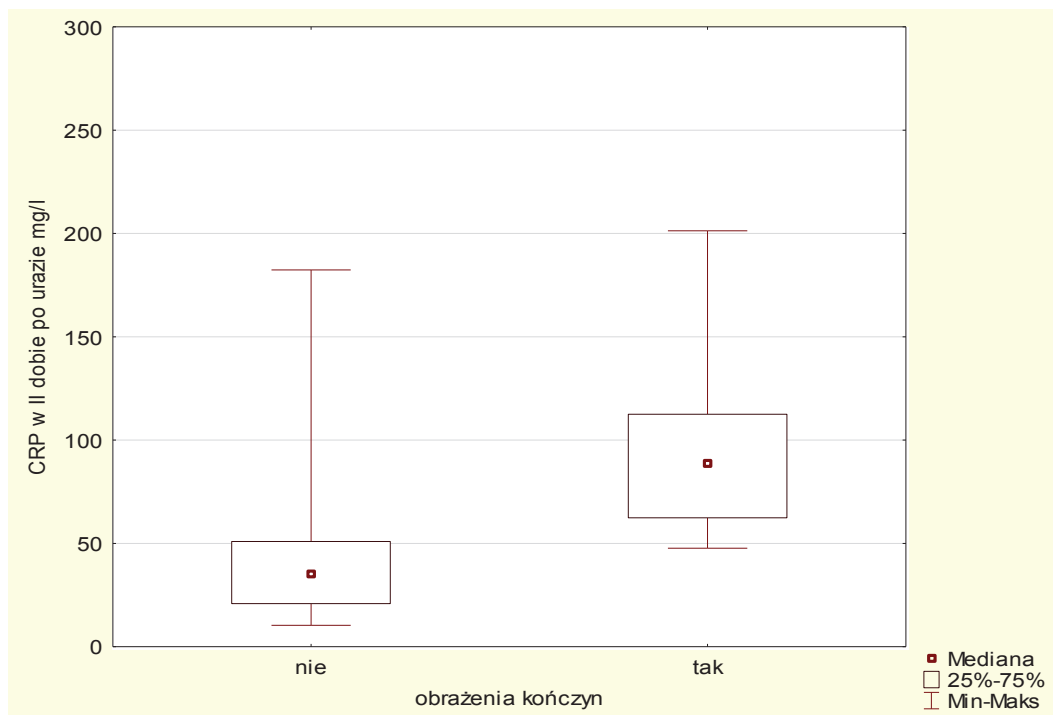


Wykres 4a. CRP w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami klatki piersowej i bez takich obrażeń

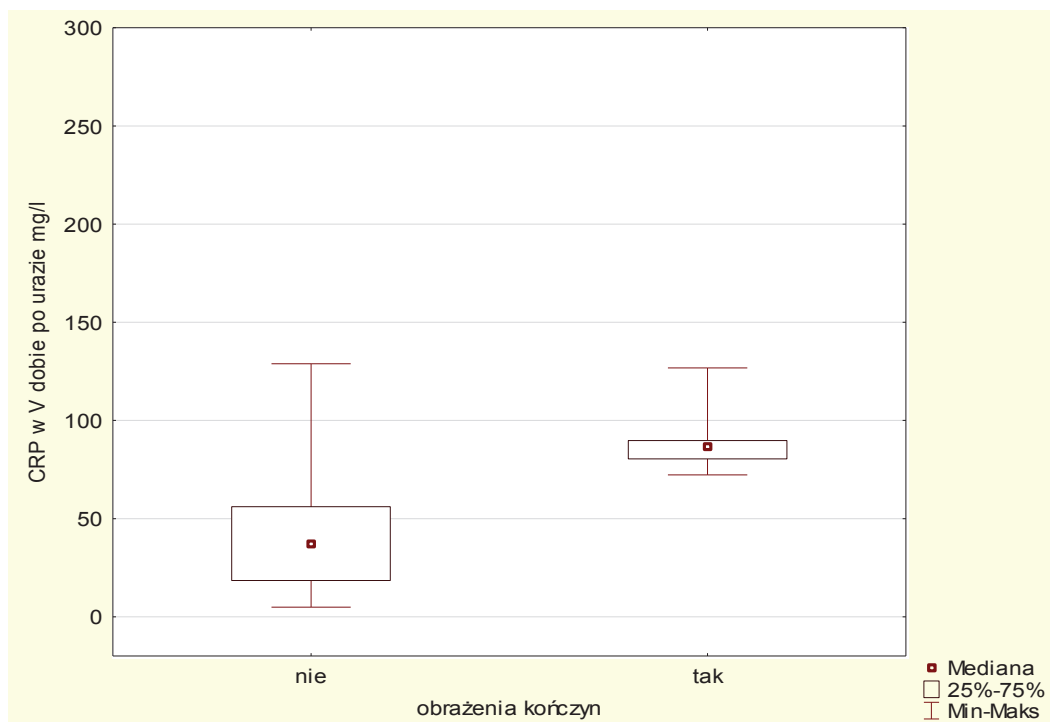
Wykazano dodatnią korelację pomiędzy liczbą leukocytów w V dobie po urazie oraz CRP w II i V dobie, a obrażeniami układu ruchu (wykresy 5a-7a). Nie stwierdzono zależności pomiędzy wartościami podstawowych parametrów stanu zapalnego w pozostałych dobach i obrażeniami układu ruchu.



Wykres 5a. Liczba leukocytów w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami układu ruchu i bez takich obrażeń



Wykres 6a. CRP w II dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami układu ruchu i bez takich obrażeń

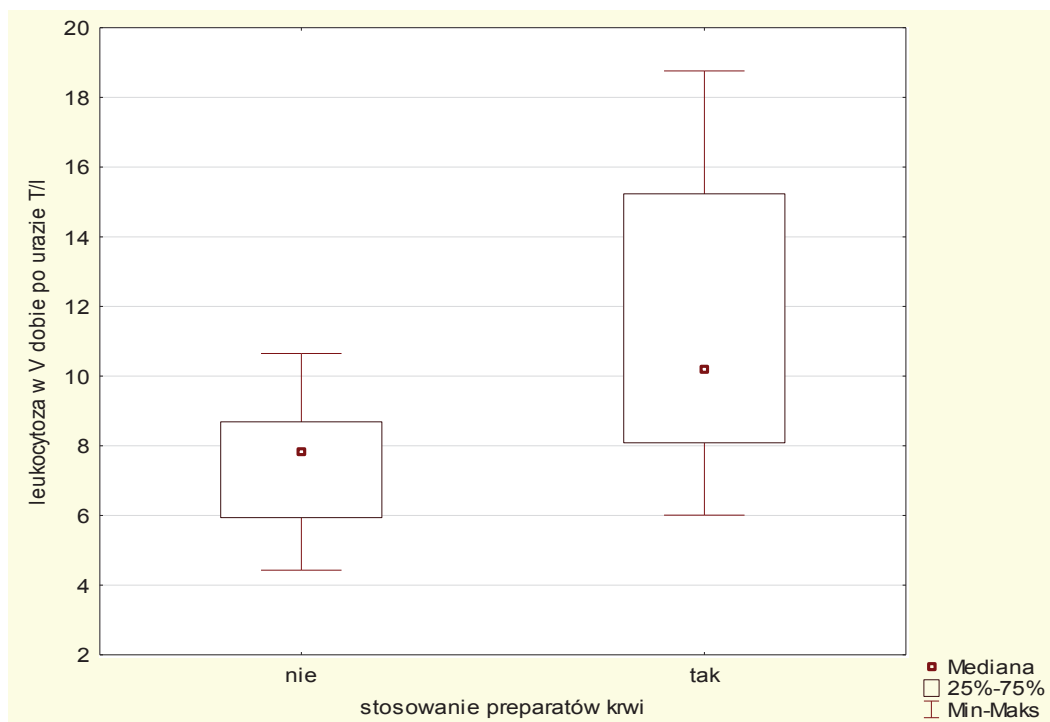


Wykres 7a. CRP w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami układu ruchu i bez takich obrażeń

Nie wykazano zależności podstawowych parametrów reakcji zapalnej od występowania dodatkowych chorób przed urazem w grupie G2.

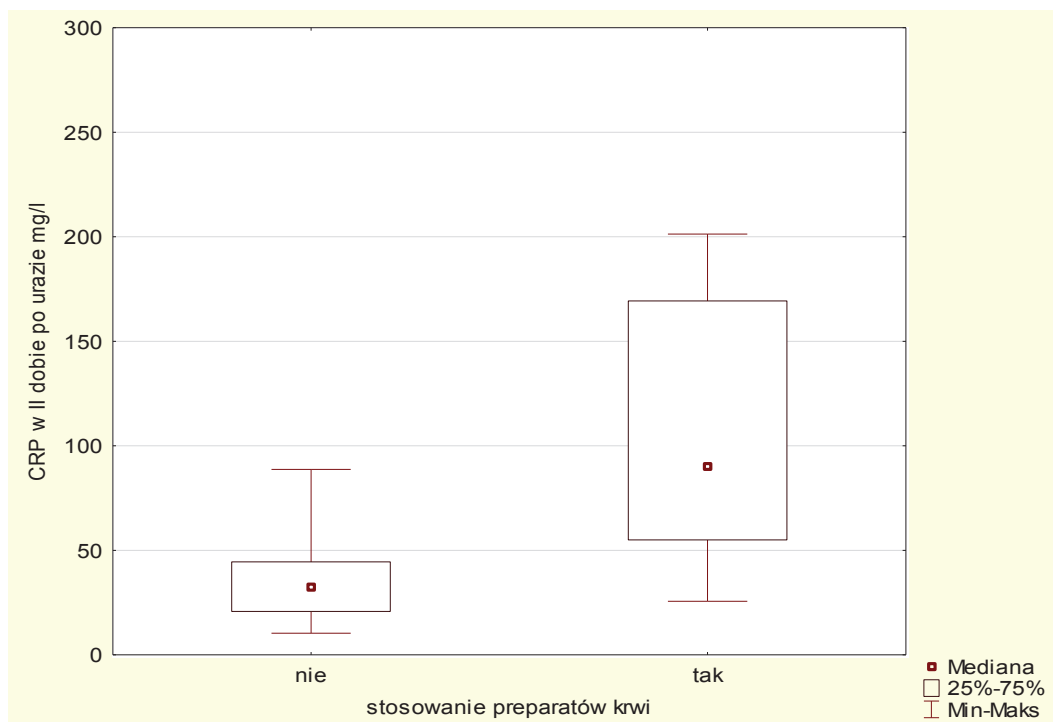
1.4. Zależność pomiędzy parametrami reakcji zapalnej, a postępowaniem leczniczym – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego.

Stwierdzono statystycznie znamienne wyższą liczbę leukocytów w V dobie od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2), u których przetaczano preparaty krwi (wykres 8a). Nie wykazano w/w zależności w pozostałych dobach.

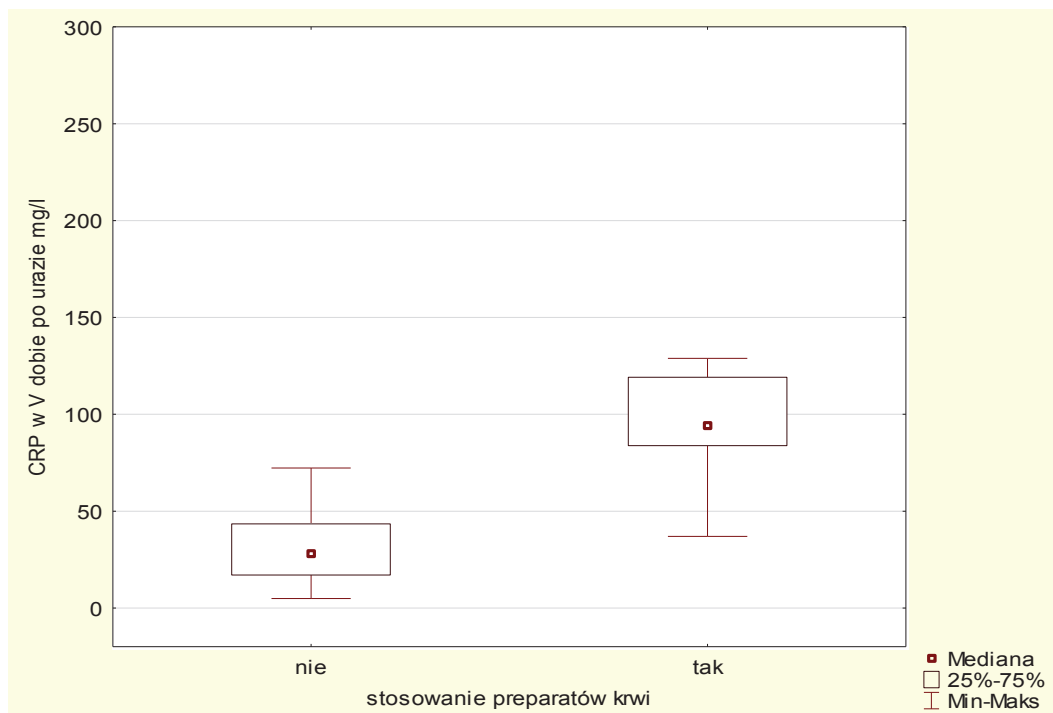


Wykres 8a. Leukocytoza w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których stosowano przetoczenia preparatów krwi i chorych nie leczonych krwią

Wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości CRP w II i V dobie od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2), u których przetaczano preparaty krwi (wykresy 9a,10a). Nie wykazano zależności statystycznej wartości CRP w dobie I od stosowania preparatów krwi.

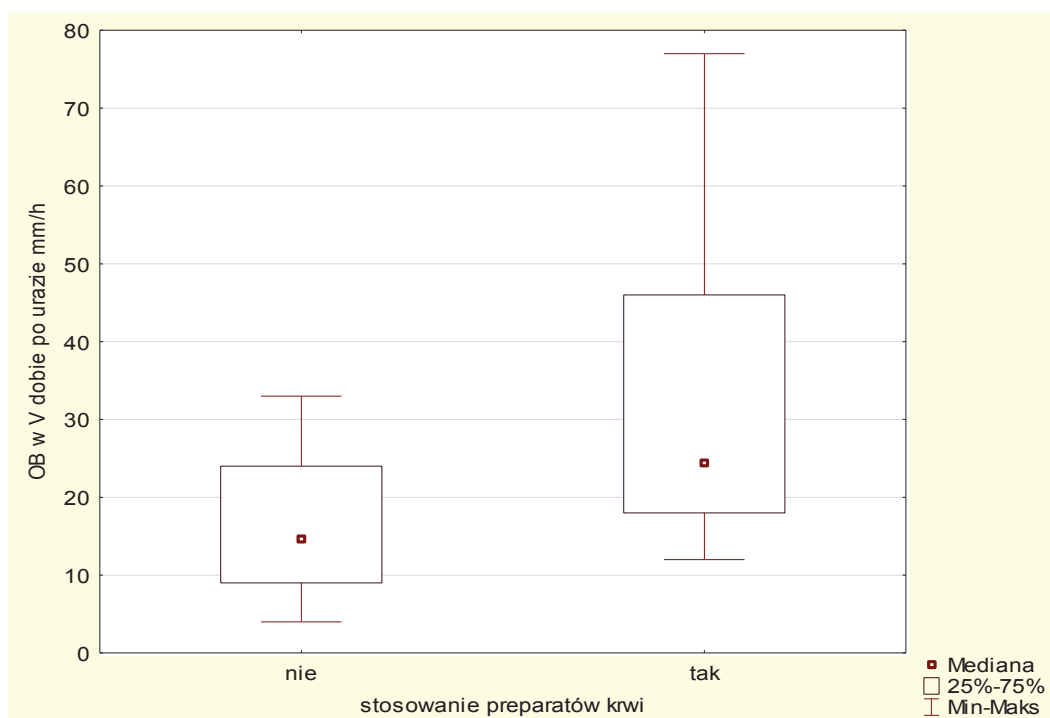


Wykres 9a. CRP w II dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których stosowano przetoczenia preparatów krwi i chorych nie leczonych krwią



Wykres 10a. CRP w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których stosowano przetoczenia preparatów krwi i chorych nie leczonych krwią

Stwierdzono statystycznie znamienne wyższe wartości OB w V dobie od urazu w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2), u których przetaczano preparaty krwi (wykres 11a). Nie wykazano w/w zależności w pozostałych dobach.

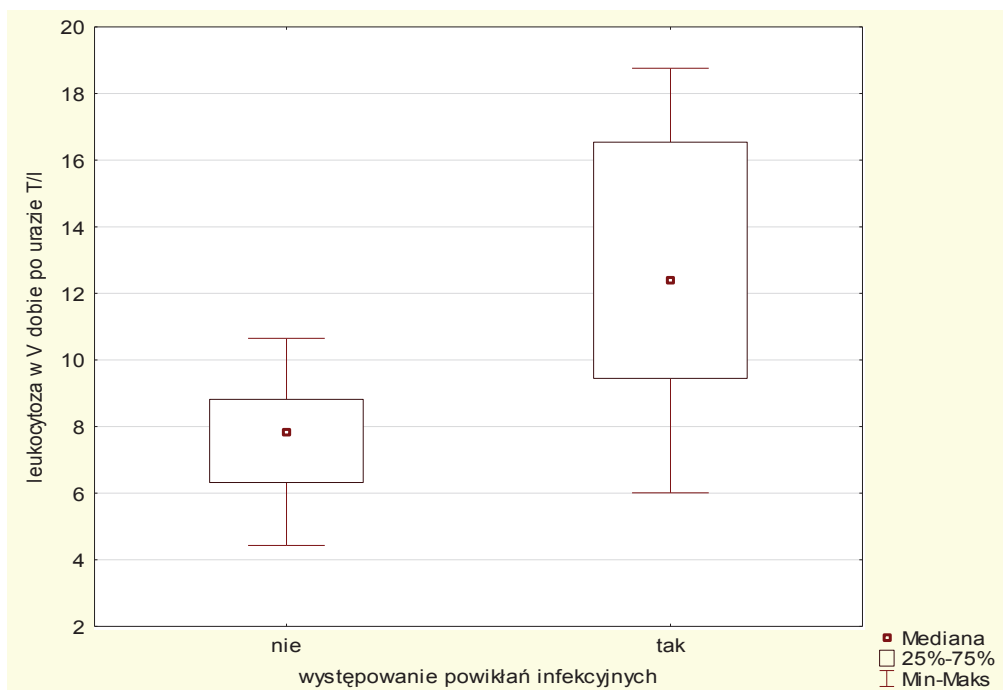


Wykres 11a. OB w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których stosowano przetoczenia preparatów krwi i chorych nie leczonych krwią

Nie wykazano zależności statystycznej wartości podstawowych parametrów reakcji zapalnej w poszczególnych dobach w grupie badanej (Gb) jak również w grupie kontrolnej chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) w zależności od doby przeprowadzenia zabiegu operacyjnego.

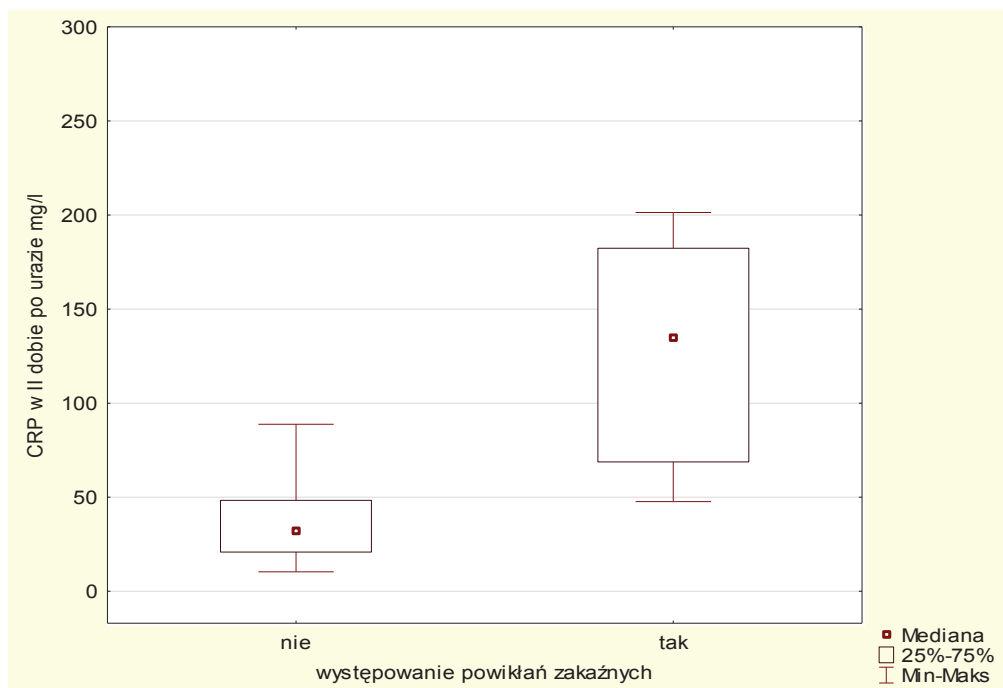
1.5. Ocena podstawowych parametrami stanu zapalnego, w zależności od występowania powikłań infekcyjnych.

W grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) wykazano statystycznie znamienne wyższą liczbę leukocytów w V dobie po urazie, u chorych z mnogimi obrażeniami ciała (Gb), u których stwierdzono w późniejszym okresie powikłania infekcyjne (wykres 12a). Nie wykazano takiej korelacji w dobie I i II od urazu.

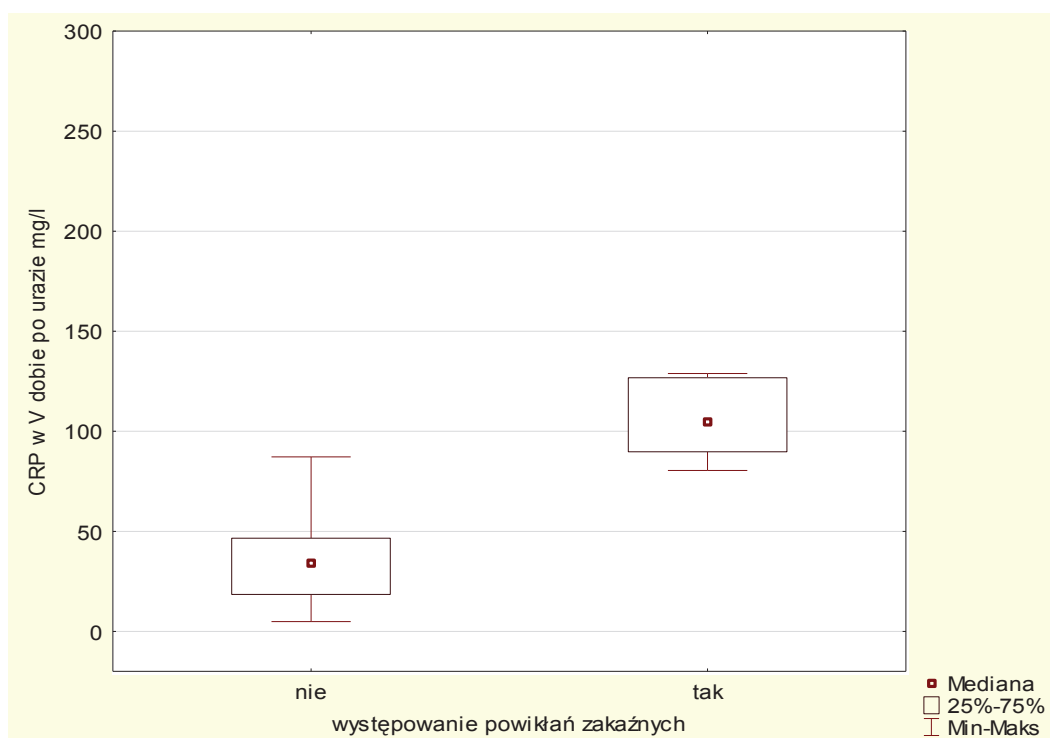


Wykres 12a. Leukocytoza w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań

Wykazano dodatnią korelację pomiędzy poziomem CRP w II i V dobie po urazie, a występowaniem powikłań zakaźnych u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) (wykres 13a,14a). Nie wykazano takiej zależności w dobie I.



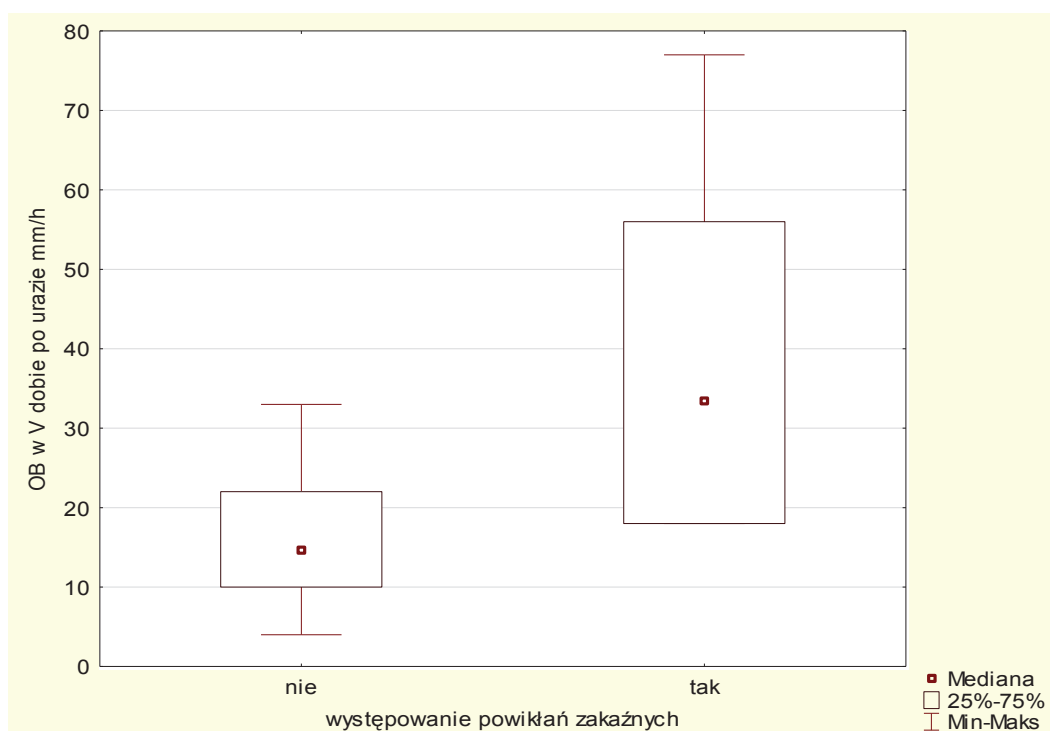
Wykres 13a. CRP w II dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań



Wykres 14a. CRP w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań

Analiza czułości i specyficzności wykazała punkt odcięcia wartości CRP w II dobie na poziomie 68,76 – czułość 83,3%, specyficzność 92,9% oraz CRP w V dobie na poziomie 80,4 – czułość 100%, specyficzność 92,9%.

Wykazano dodatnią korelację pomiędzy poziomem OB w V dobie po urazie, a występowaniem powikłań zakaźnych u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) (wykres 15a). Nie wykazano takiej zależności w dobie I i II.



Wykres 15a. OB w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań

2. Analiza poziomu wybranych cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych

2.1. Poziom cytokin w zależności od płci i wieku

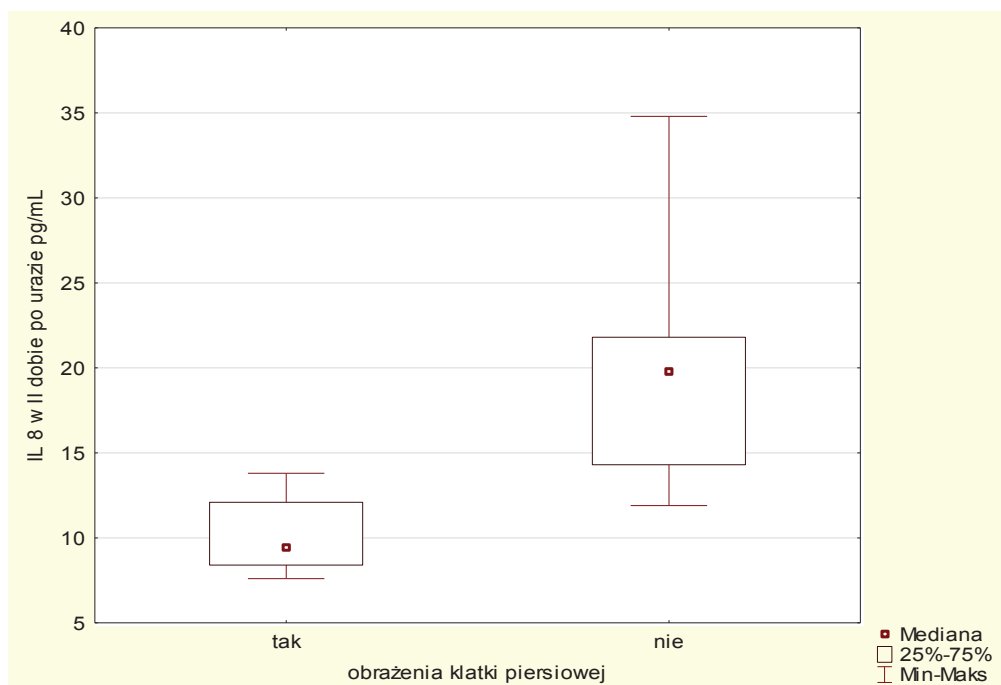
W grupie kontrolnej ochotników bez urazu G1 oraz w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi G2 nie wykazano zależności poziomu badanych cytokin od płci i wieku.

2.2. Ocena poziomów badanych cytokin w zależności od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS

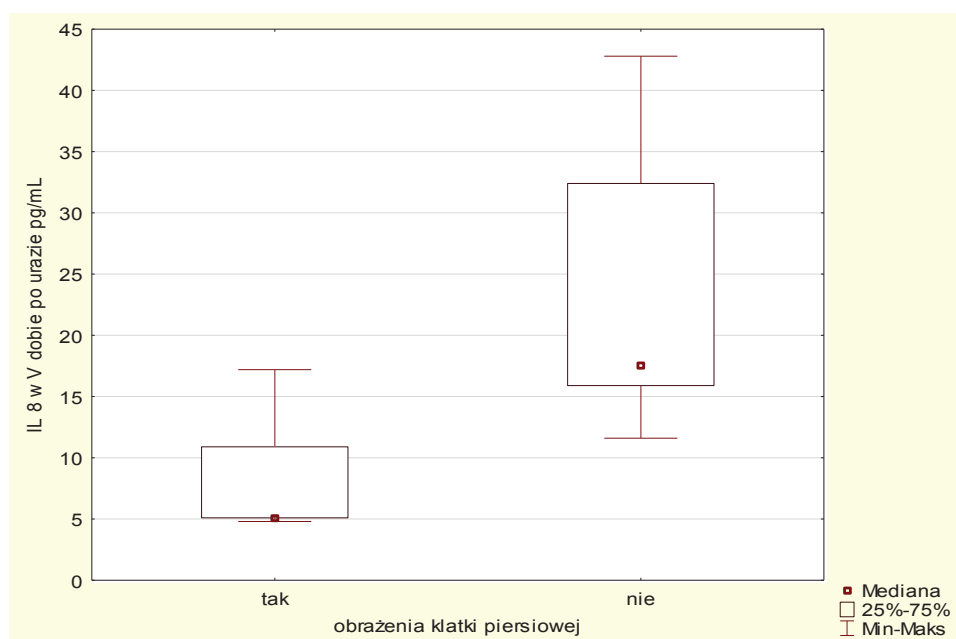
W grupie kontrolnej chorych z obrażeniami pojedynczymi nie wykazano zależności poziomów badanych cytokin od wartości GCS, RTS i AIS.

2.3. Ocena poziomów badanych cytokin w zależności od lokalizacji doznanych obrażeń i występowania chorób dodatkowych przed urazem.

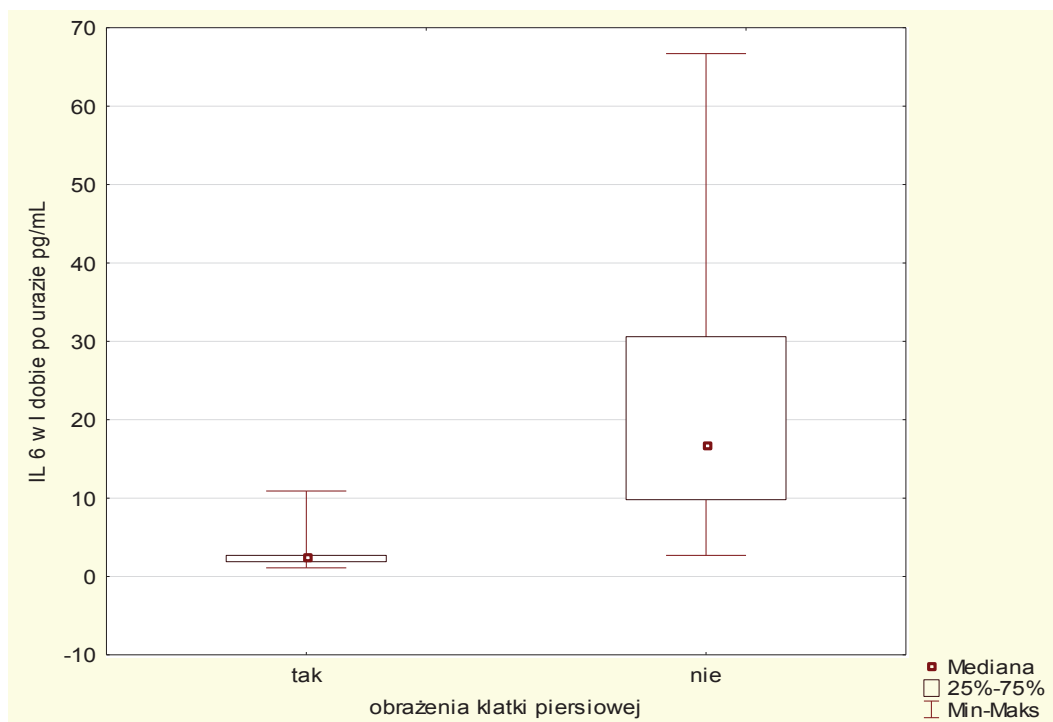
W grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) wykazano statystycznie znamienne wyższe poziomy IL8 w II i V dobie po urazie oraz IL6 w I, II i V dobie po urazie u chorych z izolowanymi obrażeniami klatki piersiowej (wykresy 16a-20a). Nie wykazano korelacji poziomów pozostałych badanych cytokin i okolicy doznanych obrażeń.



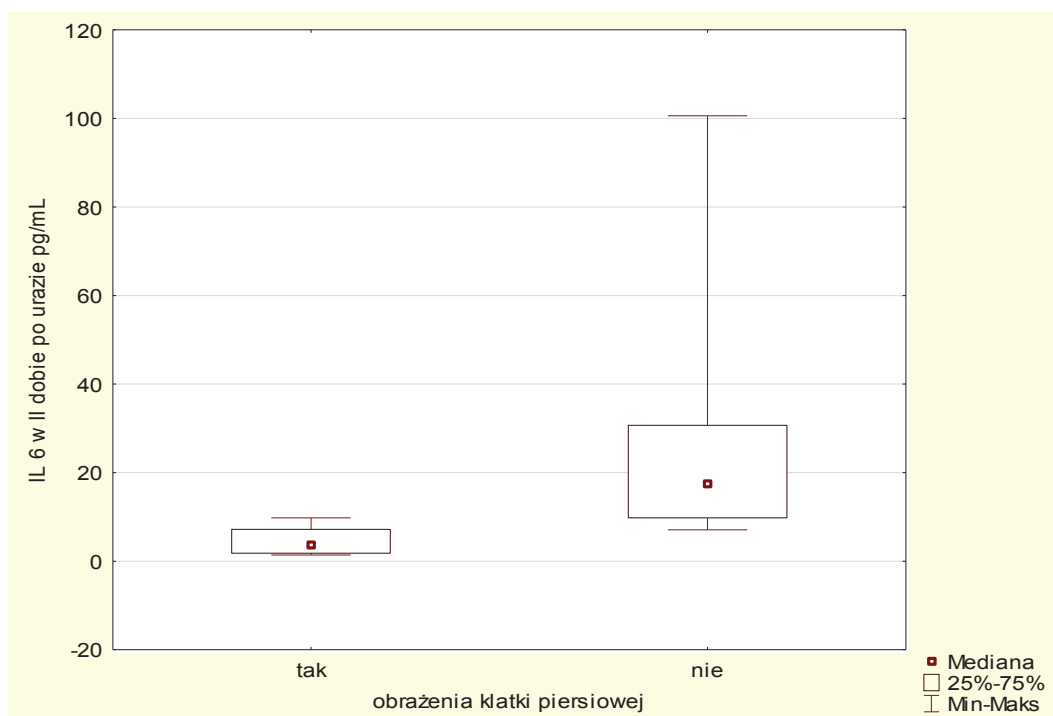
Wykres 16a. IL8 w II dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami klatki piersiowej i bez takich obrażeń



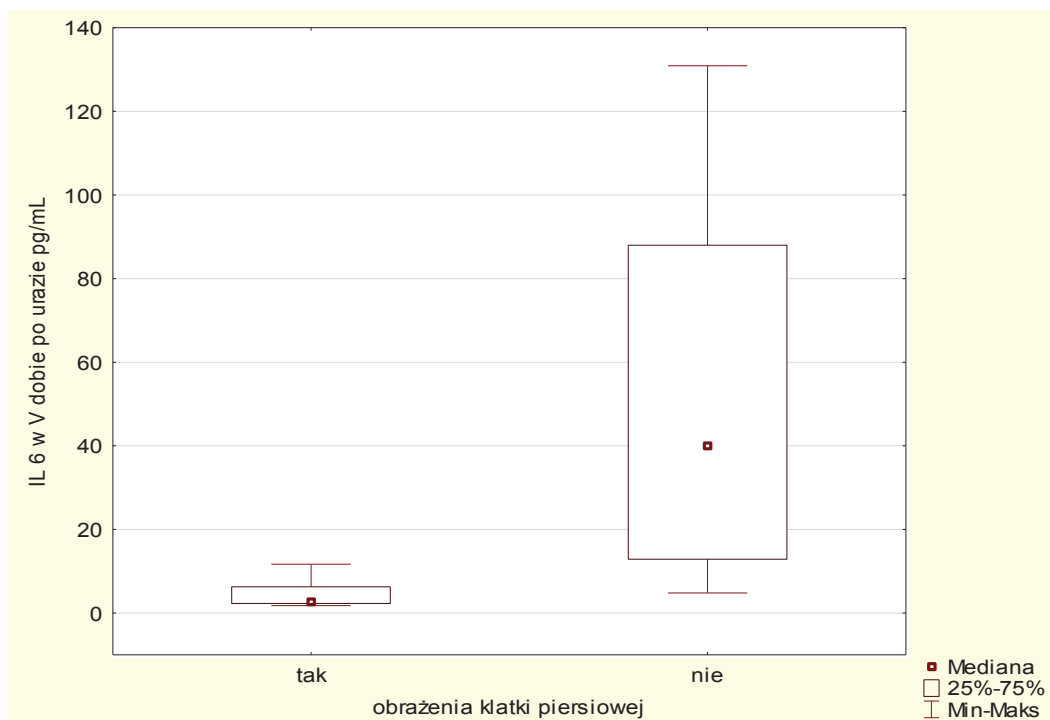
Wykres 17a. IL8 w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami klatki piersiowej i bez takich obrażeń



Wykres 18a. IL6 w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami klatki piersiowej i bez takich obrażeń



Wykres 19a. IL6 w II dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami klatki piersiowej i bez takich obrażeń



Wykres 20a. IL6 w V dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami klatki piersiowej i bez takich obrażeń

Nie stwierdzono zależności poziomów badanych cytokin od występowania chorób dodatkowych przed urazem w grupie G2.

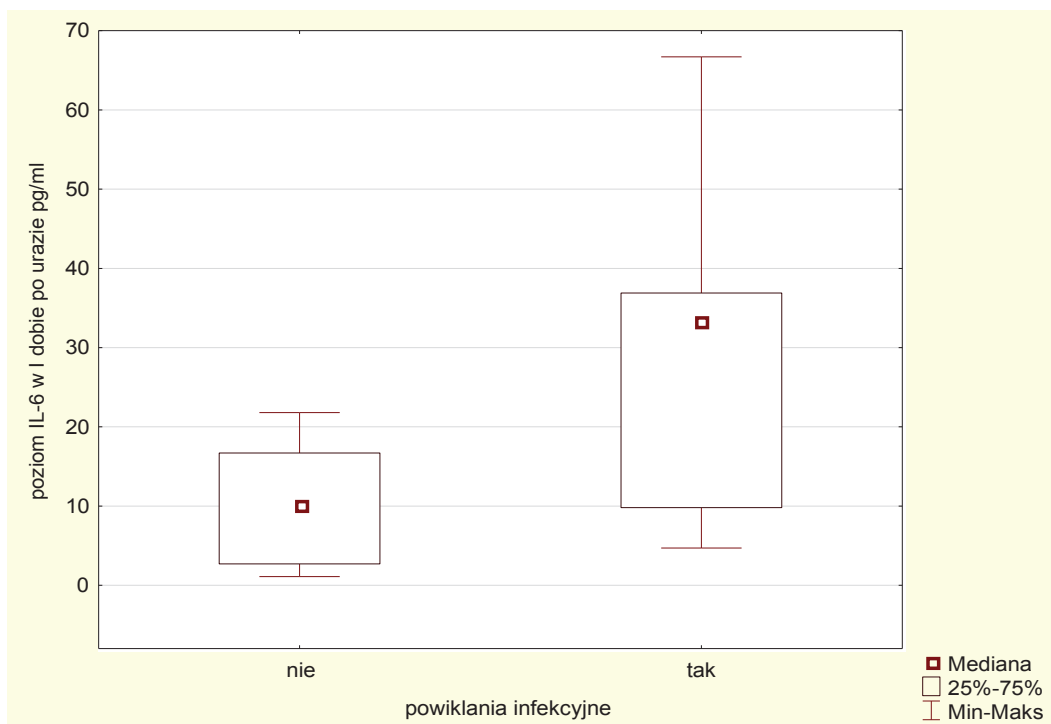
2.4. Zależność poziomu badanych cytokin od postępowania leczniczego – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego

Nie wykazano zależności statystycznych pomiędzy poziomami badanych cytokin, a stosowaniem preparatów krwi zarówno w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2).

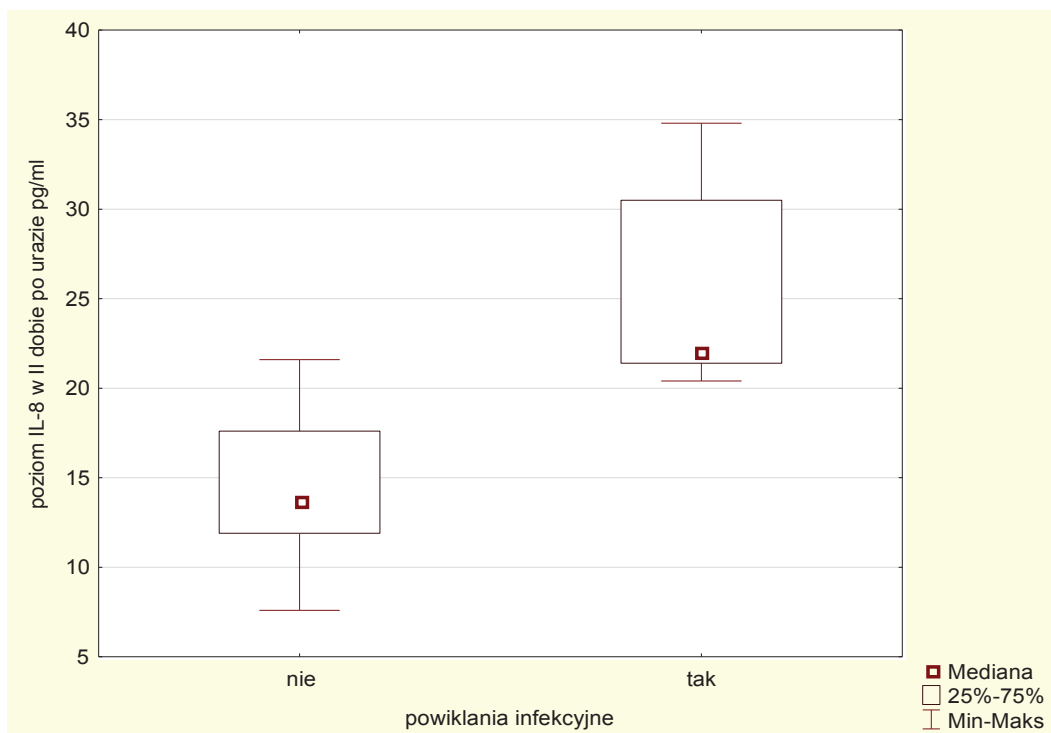
W grupie G2 nie stwierdzono zależności poziomów badanych cytokin od doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu operacyjnego.

2.5. Korelacja pomiędzy stężeniem badanych cytokin, a występowaniem powikłań infekcyjnych

Wykazano dodatnią zależność statystyczną pomiędzy poziomem IL8 w II dobie po urazie oraz IL6 w I dobie od urazu, a występowaniem powikłań zakaźnych u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała (G2) (wykresy 21a, 22a) Nie wykazano korelacji stężeń pozostałych cytokin w poszczególnych dobach z powikłaniami zakaźnymi w grupie G2.



Wykres 21a. IL6 w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań



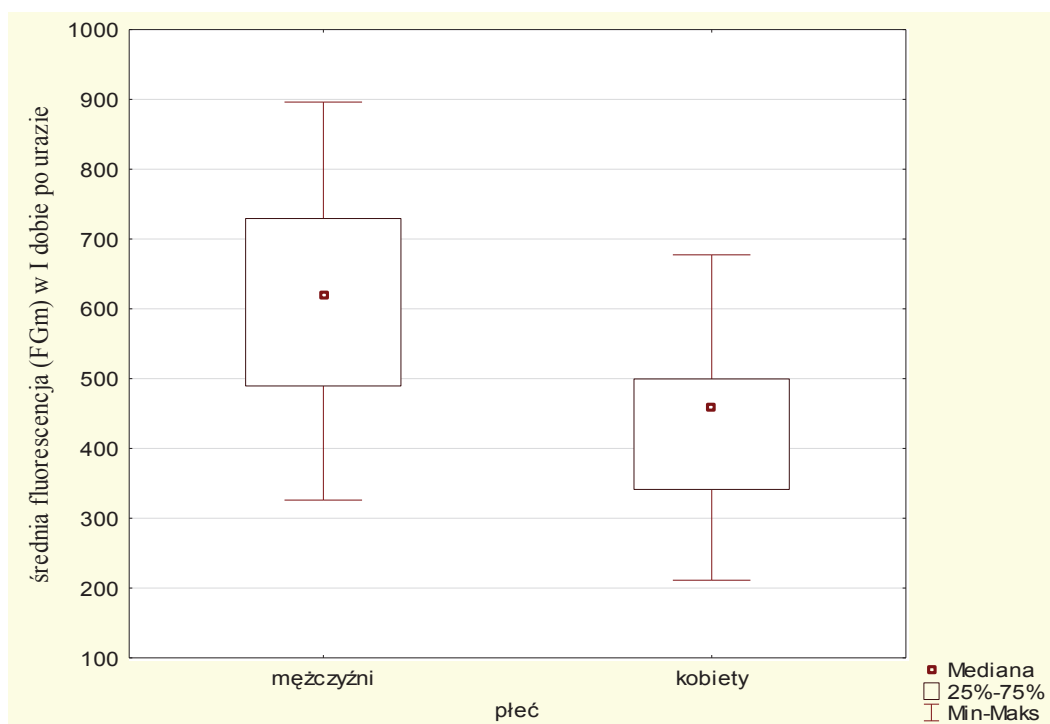
Wykres 22a. IL8 w II dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań

Analiza czułości i specyficzności wykazała punkt odcięcia wartości IL6 w I dobie na poziomie 22 – czułość 66,7%, specyficzność 100%.

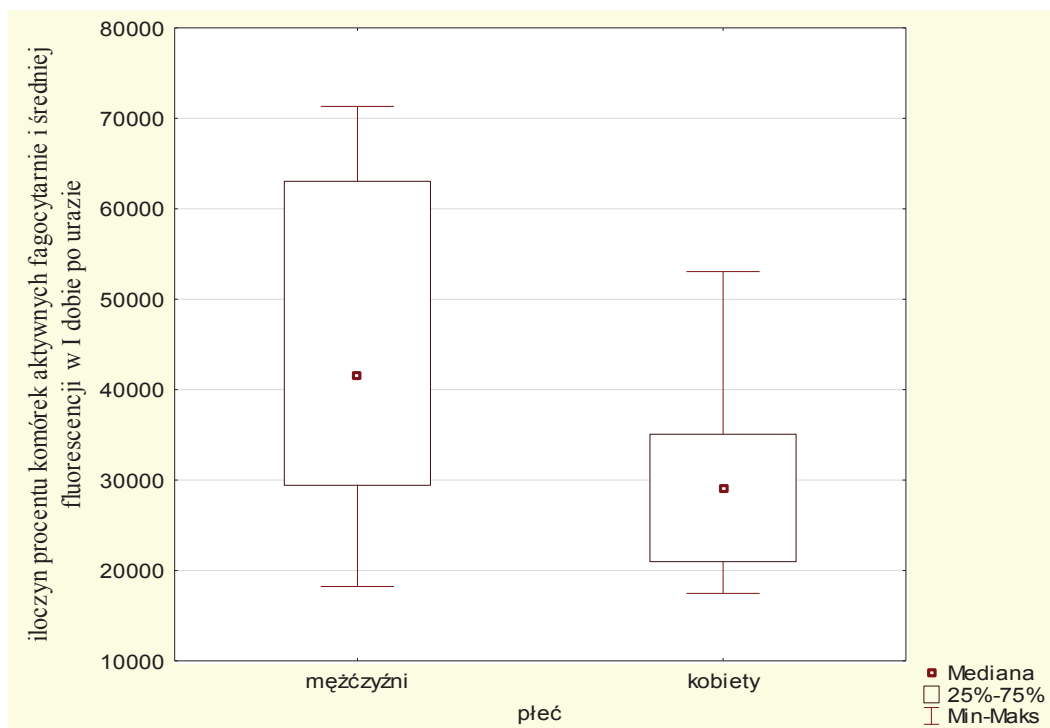
3. Aktywność fagocytarna komórek żernych

3.1. Aktywność fagocytozy w zależności od płci i wieku.

W grupie kontrolnej chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) wykazano statystycznie znamienne niższe wartości FGm w I dobie od urazu u kobiet (wykres 23a). Nie wykazano zależności od płci tego parametru w II i V dobie, jak również F% i Filo. Stwierdzono obniżenie Filo w grupie chorych płci żeńskiej na granicy znamienności statystycznej – $p=0,06$ (wykres 24a)



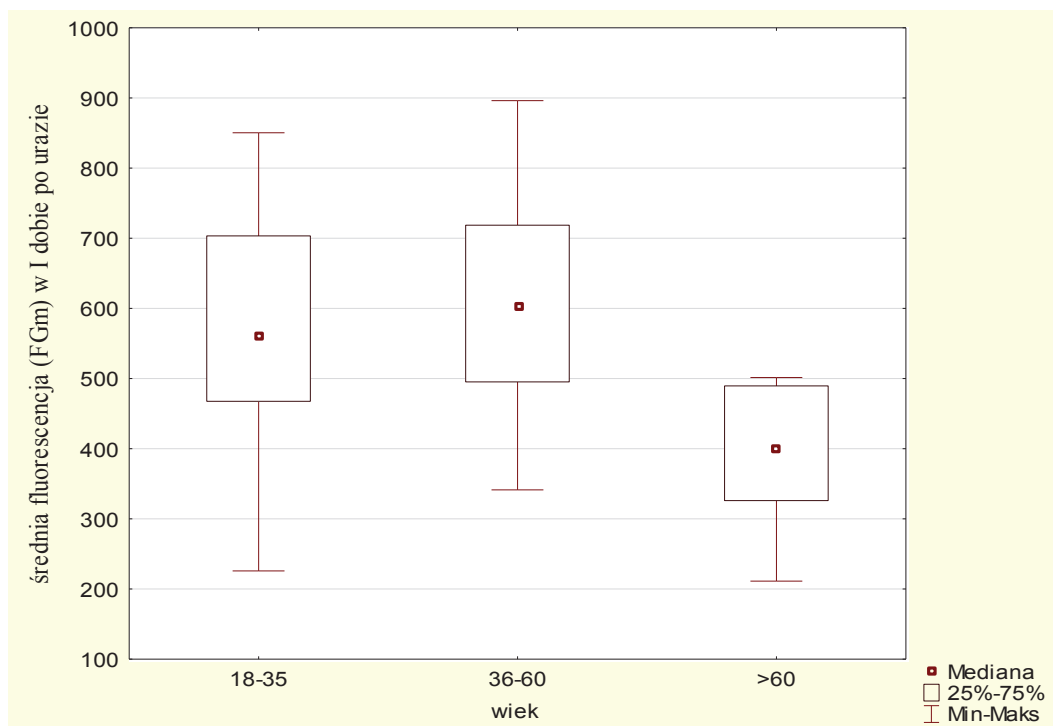
Wykres 23a. Wartości FGm w grupie chorych z obrażeniami mnogimi w I dobie w zależności od płci



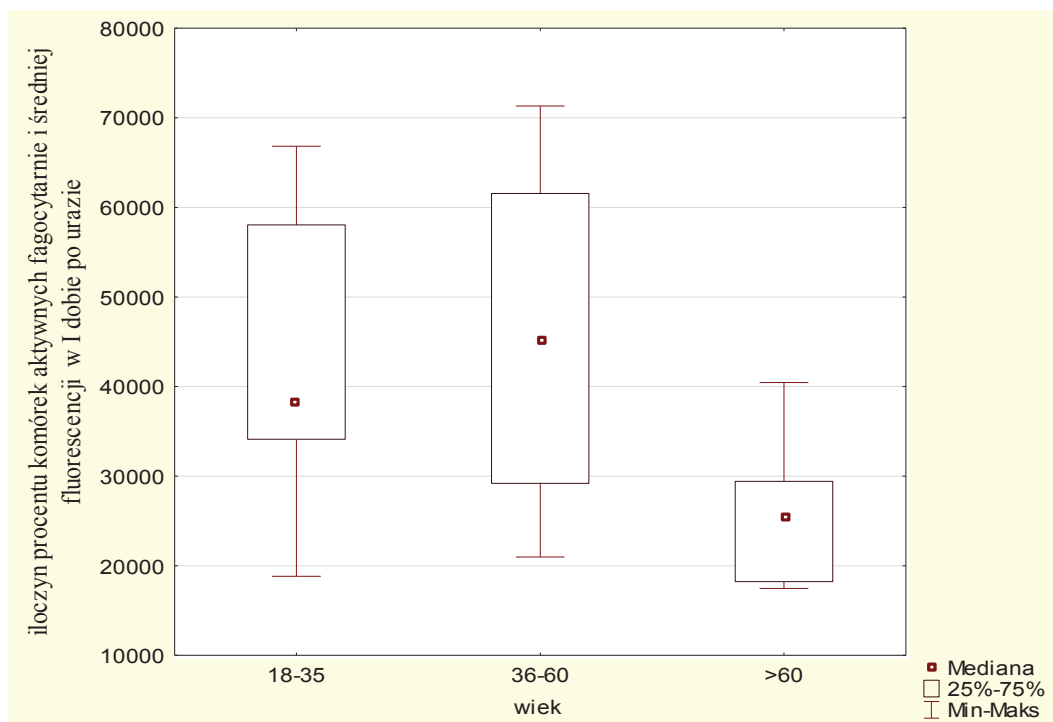
Wykres 24a. Wartości FGm w grupie chorych z obrażeniami mnogimi w I dobie w zależności od płci

Nie wykazano statystycznie zamiennej zależności wartości F% w grupie kontrolnej G2 od wieku badanych.

Stwierdzono statystycznie znamienne niższe wartości FGm grupie G2 w I dobie od urazu, u pacjentów powyżej 60 lat w porównaniu z grupą chorych w wieku 36-60 lat. Różnica pomiędzy grupami 18-35 i >60 na granicy znamienności statystycznej $p=0,07$ (wykres 25a). Nie wykazano zależności od wieku tego parametru w II i V dobie, jak również wartości F%. Analogicznie stwierdzono różnicę obniżone wartości Filo w grupie chorych w wieku powyżej 60 lat w stosunku do grupy pacjentów w wieku 36-60 lat. Różnica pomiędzy grupami 18-35 i >60 na granicy znamienności statystycznej $p=0,06$ (wykres 26a). Nie wykazano zależności od wieku tego parametru w II i V dobie po urazie.



Wykres 25a. Wartości FGm w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi w I dobie po urazie w poszczególnych zakresach wiekowych



Wykres 26a. Wartości Filo w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi w I dobie po urazie w poszczególnych zakresach wiekowych

Nie wykazano korelacji znamiennej statystycznie pomiędzy płcią i wiekiem, a parametrami fagocytozy – F%, FGm i Filo w grupie zdrowych ochotników (G1).

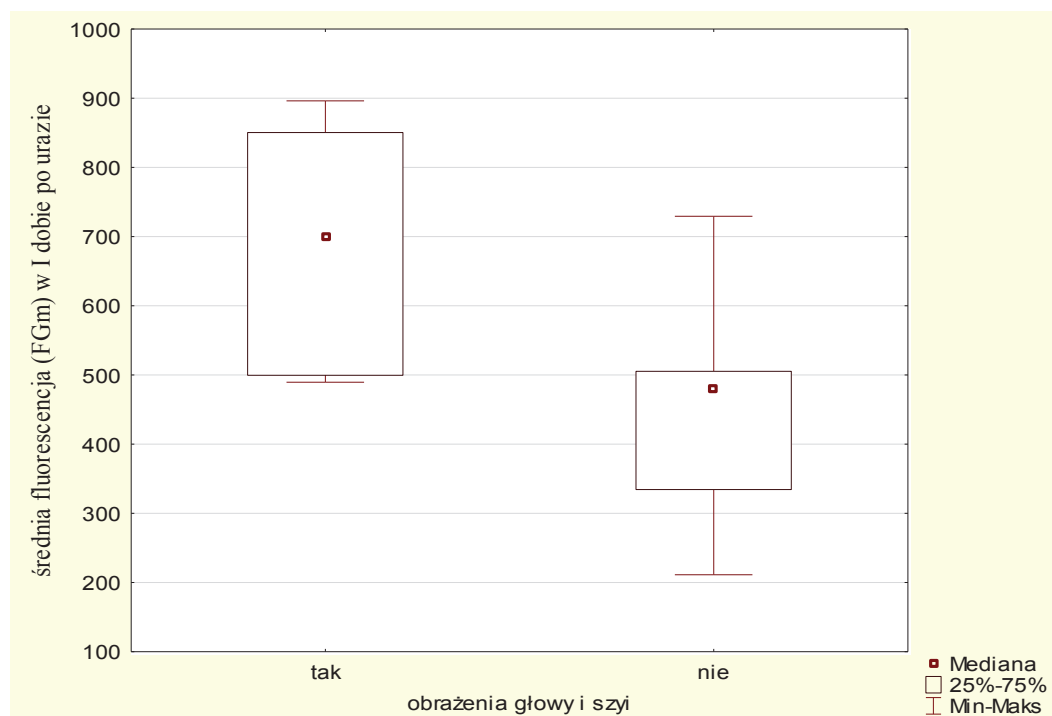
3.2. Zależność parametrów fagocytozy od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS

Nie wykazano statystycznie znamiennej zależności pomiędzy badanymi parametrami fagocytozy, a wartością w skali AIS u chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2).

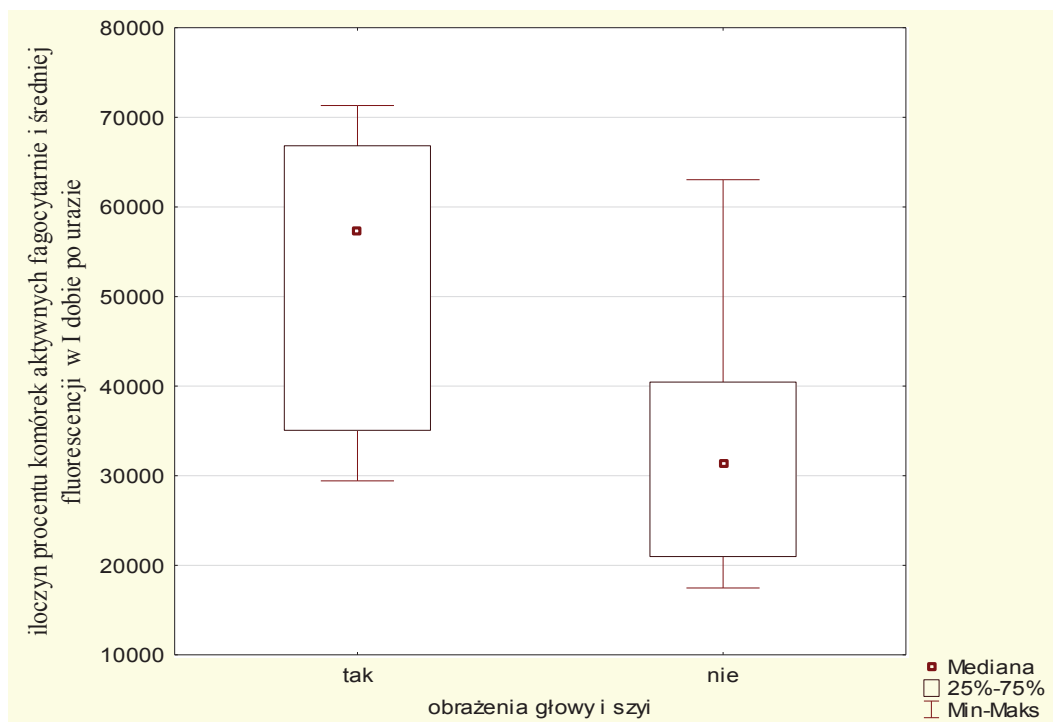
Nie stwierdzono również zależności statystycznych pomiędzy oceną w skalach GCS RTS chorych w grupie kontrolnej G2 i badanymi parametrami fagocytozy.

3.3. Zależność badanych parametrów fagocytozy od lokalizacji obrażeń i występowania chorób dodatkowych.

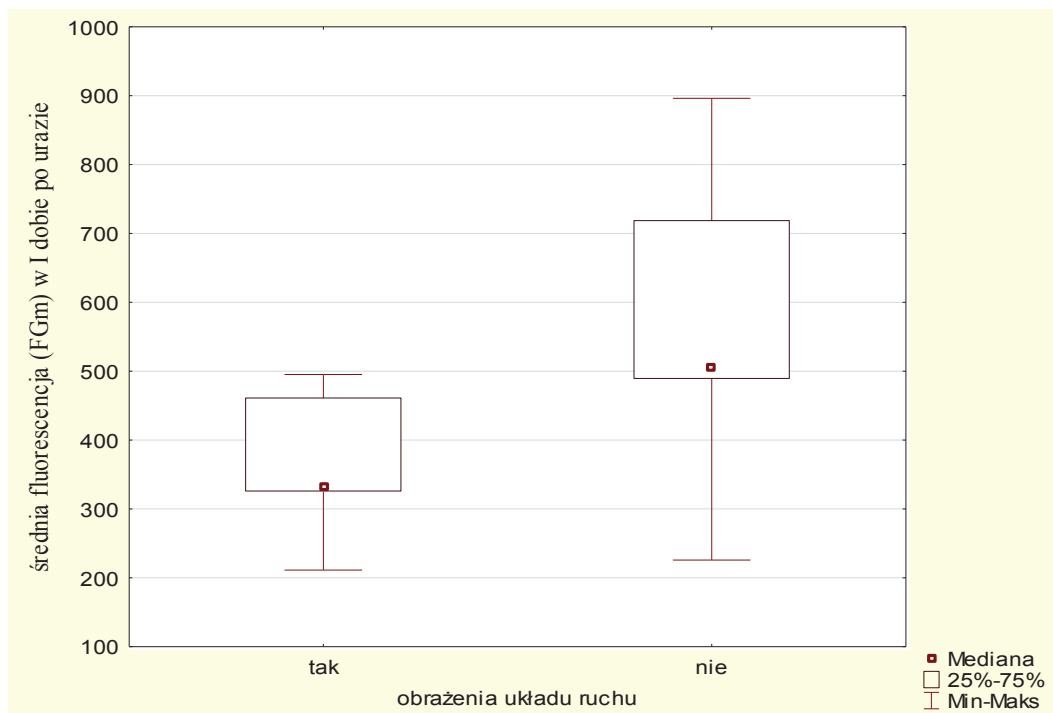
W grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) wykazano statystycznie znamienne wyższe wartości FGm oraz Filo w I dobie po urazie u pacjentów z obrażeniami głowy oraz niższe u chorych z obrażeniami kończyn (wykresy 27a-30a).



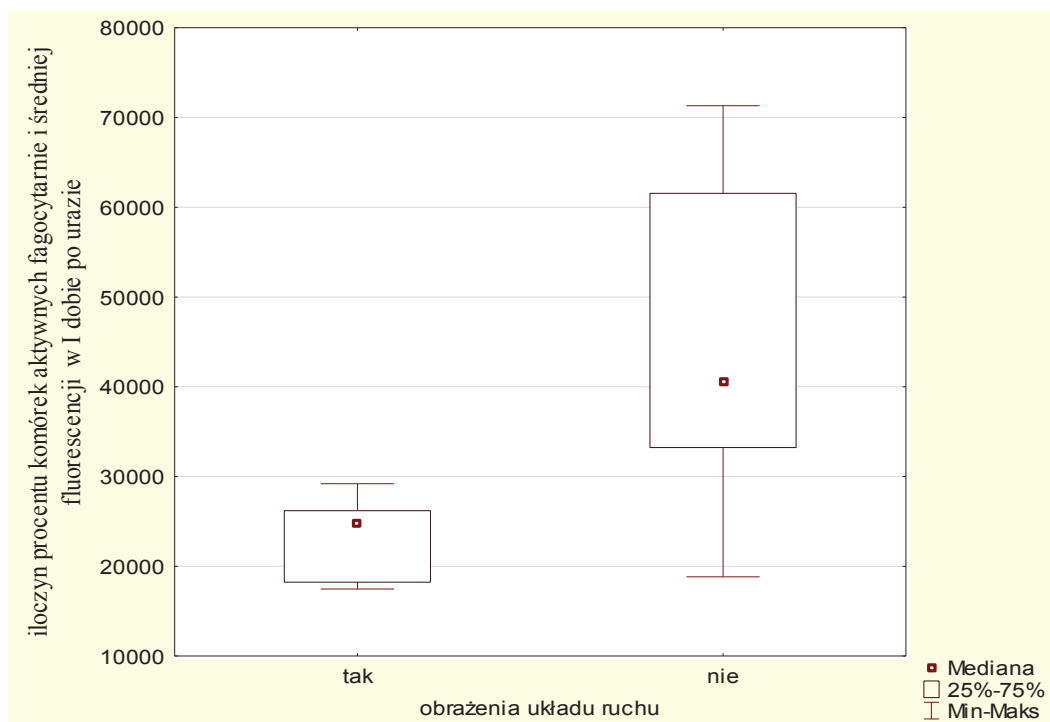
Wykres 27a. FGm w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami głowy i szyi i bez takich obrażeń



Wykres 28a. Filo w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami głowy i szyi i bez takich obrażeń



Wykres 29a. FGm w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami układu ruchu i bez takich obrażeń



Wykres 30a. Filo w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami układu ruchu i bez takich obrażeń

Nie stwierdzono korelacji wartości parametrów fagocytozy z chorobami dodatkowymi w grupie kontrolnej G2.

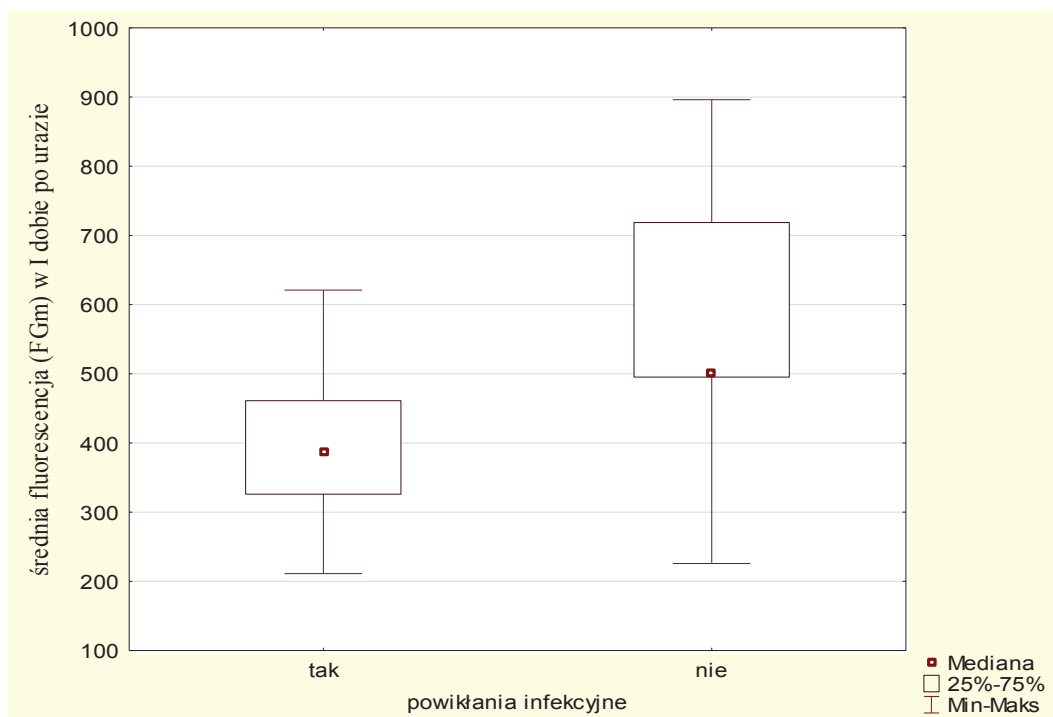
3.4. Zależność badanych parametrów fagocytozy od postępowania leczniczego – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego.

W grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) nie wykazano zależności parametrów fagocytozy od zastosowania przetoczeń preparatów krwi.

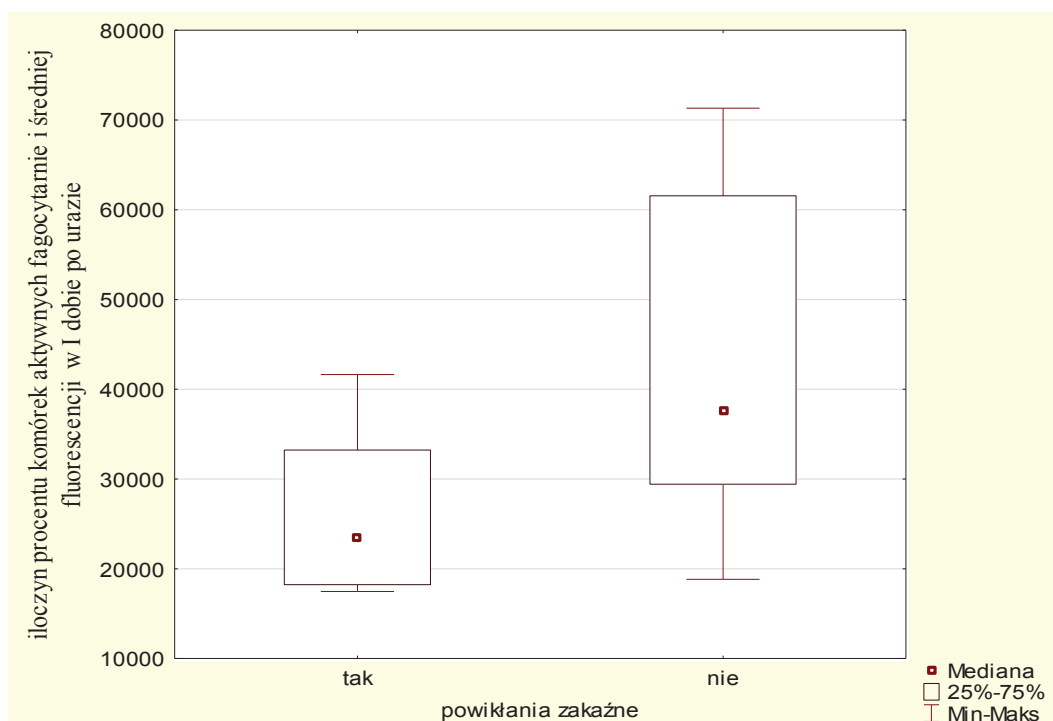
Nie stwierdzono również korelacji pomiędzy dobą przeprowadzenia pierwszego zabiegu operacyjnego, a badanymi parametrami fagocytozy w grupie G2.

3.5. Korelacja pomiędzy wartością badanych parametrów fagocytozy, a występowaniem powikłań zakaźnych

W grupie kontrolnej chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) stwierdzono ujemną zależność pomiędzy wartością FGm i Filo w I dobie od urazu, a występowaniem powikłań zakaźnych (wykresy 31a, 32a). Nie wykazano takich zależności dla F% i FG oraz Filo w pozostałych dobach.



Wykres 31a. FGm w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań



Wykres 32a. Filo w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych, u których wystąpiły powikłania infekcyjne i grupie chorych bez powikłań

4. Aktywność przeciwbakteryjna komórek żernych na podstawie analizy „wybuchu tlenowego”

4.1. Aktywność „wybuchu tlenowego” w zależności od płci i wieku

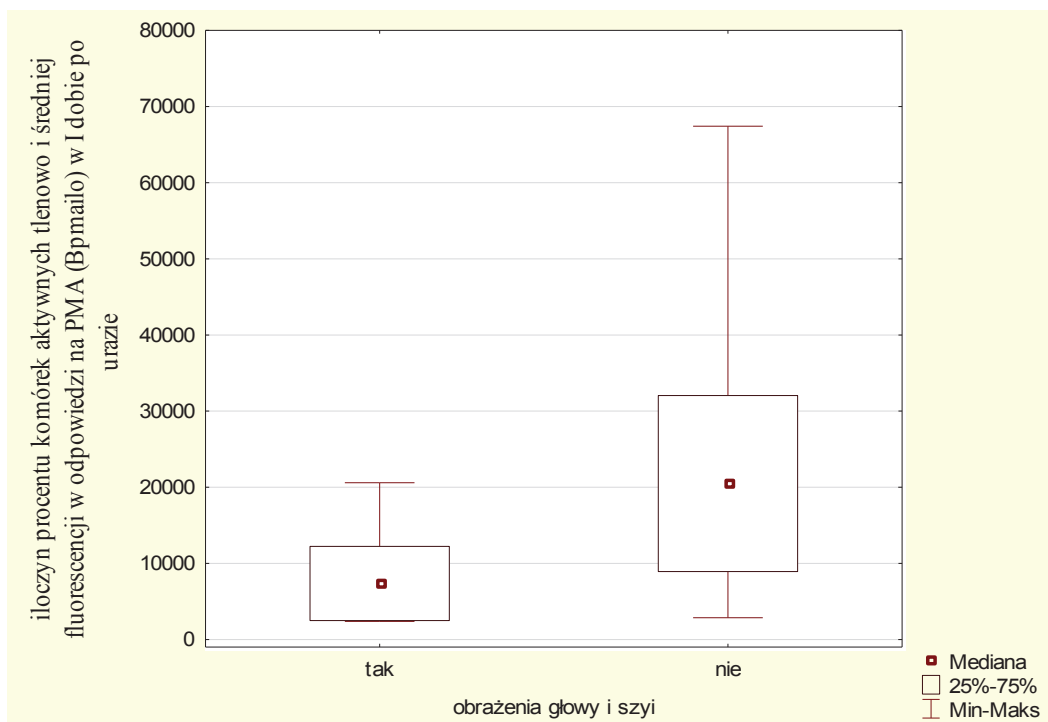
Nie wykazano korelacji znamiennej statystycznie pomiędzy płcią i wiekiem, a badanymi parametrami „wybuchu tlenowego” w grupie zdrowych ochotników (G1) jak również w grupie chorych z pojedynczymi obrażeniami (G2).

4.2. Zależność parametrów „wybuchu tlenowego” od wartości skal AIS, ISS, RTS i GCS

Nie wykazano zależności statystycznej wartości parametrów „wybuchu tlenowego” od wartości skal AIS, GCS i RTS w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2).

4.3. Zależność badanych parametrów „wybuchu tlenowego” od okolicy doznanych obrażeń i występowania chorób współistniejących.

W grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) wykazano statystycznie znamienne niższe wartości Bpmailo w I dobie po urazie u chorych z obrażeniami głowy (wykres 33a).



Wykres 33a. Bpmailo w I dobie po urazie u chorych z pojedynczymi obrażeniami ciała w grupie chorych z obrażeniami głowy i szyi i bez takich obrażeń

Nie wykazano wpływu obrażeń pozostałych okolic anatomicznych na poziom badanych parametrów „wybuchu tlenowego” w grupie G2.

Zarówno w grupie Gb jak i G2 nie stwierdzono wpływu chorób dodatkowych na parametry „wybuchu tlenowego”.

4.4. Zależność badanych parametrów „wybuchu tlenowego” od postępowania leczniczego – przetoczenia preparatów krwi oraz doby przeprowadzenia pierwszego zabiegu chirurgicznego.

W grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi (G2) nie wykazano zależności parametrów „wybuchu” tlenowego od zastosowania przetoczeń preparatów krwi.

Nie stwierdzono również korelacji pomiędzy dobą przeprowadzenia pierwszego zabiegu operacyjnego, a badanymi parametrami „wybuchu tlenowego”

4.5. Korelacja pomiędzy wartością badanych parametrów „wybuchu tlenowego”,
a występowaniem powikłań zakaźnych.

Nie wykazano zależności występowania powikłań zakaźnych od parametrów wybuchu tlenowego” w grupie chorych z obrażeniami pojedynczymi.