Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ

ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ім. М. ГОРЬКОГО

**КРЮК ОЛЕКСАНДР ЮРІЙОВИЧ**

УДК (616-001.5+616-001.36)-099

**ОСОБЛИВОСТІ ПАТОГЕНЕЗУ ГІПЕРМЕТАБОЛІЗМУ У СИСТЕМНІЙ ЗАПАЛЬНІЙ ВІДПОВІДІ ОРГАНІЗМУ ПРИ ТЯЖКІЙ МЕХАНІЧНІЙ ТРАВМІ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Донецьк – 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Донецькому національному медичному університеті ім. М. Горького МОЗ України

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, старший науковий співробітник **Золотухін Сергій Євгенович**, Інститут травматології та ортопедії Донецького національного медичного університету ім. М. Горького МОЗ України, завідувач лабораторії патофізіології.

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор **Клименко Микола Олексійович**, Харківський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри патофізіології;

доктор медичних наук, професор **Барінов Едуард Федорович**, Донецький національний медичний університет ім. М. Горького МОЗ України, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології.

Захист відбудеться “25” вересня 2008 року о 1300 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 11.600.02 при Донецькому національному медичному університеті ім. М. Горького (83003, м. Донецьк, пр. Ілліча, 16).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Донецького національного медичного університету ім. М. Горького (83003, м. Донецьк, пр. Ілліча, 16).

Автореферат розісланий “19” серпня 2008 року.

Вчений секретар спеціалізованої

вченої ради, доктор медичних наук,

доцент М. В. Єрмолаєва

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Політравма вже давно є не тільки медичною, але і соціальною проблемою (Ельский В. Н., Кардаш А. М., Городник Г. А., 2004). В структурі травматизму мирного часу політравма досягає 12-15% (Поляченко Н. М. и др., 2004; Marik P. E., Varon J., Trask T., 2004). За даними ВОЗ, серед причин смертності травми займають третє, а серед населення до 40 років - перше місце (Селезнев С. А., Шапот Ю. Б., Багненко С. Ф., 2003). Смертність від нещасних випадків та травм постійно зростає - в середньому на 1% щорічно (Цибуляк Г. Н., 2005). У Донбасі, важливому промисловому регіоні України, травматизм досягає характеру епідемії. Йому сприяють техногенні катастрофи, аварії на дорогах, конфлікти повсякденності. Не зважаючи на те, що постраждалі з політравмою складають 8-10% всіх, що надходять на стаціонарне лікування, саме на них припадає до 70% літальних випадків (Pape B.C. et al., 2005), що є свідоцтвом недостатньої ефективності лікування таких хворих. Між тим, вдосконалення терапії постраждалих затримується недостатньою вивченістю механізмів формування травматичної хвороби (Ельский В. Н. и др., 2003; Зяблицев С. В., 2005). У тому числі, мало вивчений патогенез гіперметаболізму при тяжкій механічній травмі (Кнорринг Г. Ю., 2005). Потребують рішення питання, що стосуються участі в цьому механізмі прозапальних цитокинів ІЛ-6, ІЛ-8 та ФНП-α. Недостатньо висвітлені питання зв‘язку показників обмінних порушень (вуглеводів, білків, ліпідів) з транслокацією мікроорганізмів та структурою бактеріального сепсису. Потребують розробки способи точної діагностики наявності гіперметаболічних порушень обміну речовин, оцінки їх тяжкості та прогнозу у постраждалих з тяжкою механічною травмою та шоком (Кетлинский С. А., Симбирцев А. С., Воробьев А. А., 2004; Левит Д. А., Лейдерман И. Н., 2006; Никонов В. В., Феськов А. Э., Нудьга А. Н., 2003; Daurinas E. E. et al., 2005).

**Зв‘язок праці з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційне дослідження належить до тематики науково-дослідних робіт Донецького національного медичного університету ім.М.Горького МОЗ України та виконане в рамках комплексної НДР “Дисфункція гуморальної регуляції в патогенезі травматичної хвороби” (№ держреєстрації 0105U008712). Дисертантом проведені дослідження біохімічних, імунологічних та бактеріологічних ланок патогенезу травматичної хвороби.

**Мета дослідження:** виявлення механізму зміни виразності гіперметаболічної реакції залежно від рівня прозапальних цитокінів, етіологічної структури і тяжкості бактерійного сепсису і встановлення прогностичної значущості гіперметаболізму при важкій механічній травмі та шоці.

**Задачі дослідження:**

1. Визначити найбільш інформативні і прості біохімічні показники, що характеризують гіперметаболізм у тварин з важкою механічною травмою і шоком в експерименті;

2. Уточнити зв'язок глюконеогенезу з гіперметаболізмом і встановити його патогенетичне значення при шоковому смертельному, шоковому несмертельному і нешоковому типах посттравматичної реакції;

3. Вивчити склад мікроорганізмів і виявити зміни в структурі бактеріємії і сепсису при шоковому смертельному, шоковому несмертельному і нешоковому типах посттравматичної реакції;

4. Провести кореляційну оцінку зв'язку між показниками цитокінової відповіді (ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП-α), транслокації мікроорганізмів і гіперметаболізму при шоковому смертельному, шоковому несмертельному і нешоковому типах посттравматичної реакції;

5. Встановити мікробіологічні критерії діагностики сепсису і визначити прогностичне значення цих показників відносно особливостей перебігу і результату посттравматичної реакції в експерименті.

*Об'єкт дослідження:*стан гіперметаболізму в системній запальній відповіді при важкій механічній травмі.

*Предмет дослідження:*показники гіперметаболізму, запалення і бактеріємії, їх прогностична значущість в динаміці трьох типів посттравматичної відповіді.

**Методи дослідження:**патогенетичні (моделювання травми), фізіологічні (оцінка електропровідності тканин), біохімічні (визначення в сироватці крові електролітів - натрію, калію, кальцію, загального білку і його фракцій, показників ліпідного обміну - холестерину, тригліцеридів, фракцій липопротеідів, глюкози, сечової кислоти, сечовини, креатиніну; активностіферментів: α-амілази, АсАТ и АлАТ, ЛФ-ази і КФ-ази, КФК, ЛДГ, ГГТ, рівень маркеру ендогенної інтоксикації МСМ), імунологічні (кількість лейкоцитів, лімфоцитів, показники ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП-α), бактеріологічні (посів мікроорганізмів на звичайні та селективні середовища, забарвлення за Романовським, Грамом, біохімічні тести для ідентифікації збудників), статистичні (комп'ютерний параметричний| аналіз, перевірка на відповідність законам Гаусового розподілу).

**Наукова новизна отриманих результатів.** Наукова новизна роботи полягає в поглибленні теоретичних основ концепції травматичної хвороби, зокрема:

- в уточненні ролі глюконеогенезу, як лімітуючої ланки гіперметаболізму в патогенезі важкої посттравматичної реакції. Найбільше значення при цьому має той факт, що рання летальність тварин при шоковому смертельному типі посттравматичної реакції обумовлена зниженням ефективності глюконеогенезу;

- у встановленні зв'язку гіперреактивного стану імунної системи з гіперметаболізмом, бактеріємією і сепсисом. При цьому показано, що в патогенезі сепсису беруть участь не патогенні бактерії, а умовно-патогенна аутофлора, що колонізує відкриті біоценози організму. При шокових типах посттравматичної реакції (шоковому смертельному і несмертельному) відбувається трансформація генералізованої запальної реакції в сепсис.

**Практичне значення отриманих результатів.** У роботі на основі простих і інформативних біохімічних показників розроблені критерії гіперметаболічних порушень обміну речовин при важкій механічній травмі і шоці. На підставі імунологічних і мікробіологічних показників розроблена медична технологія прогнозування тяжкості перебігу посттравматичної відповіді в експерименті.

Матеріали дисертації впроваджені в лікувально-діагностичний процес Інституту травматології на ортопедії, а також в педагогічний процес Донецького, Запорізького, Кримського, Харківського, Луганського медичних університетів та Дніпропетровської медичної академії.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота повністю є результатом самостійного наукового дослідження здобувача. Особистий внесок здобувача полягає в інформаційному пошуку і аналізі літературних джерел, в розробці методів дослідження, плануванні роботи, моделюванні і тестуванні типів посттравматичної відповіді, виконанні більшості лабораторних аналізів, узагальненні етапів дослідження і результатів дисертаційної роботи в цілому. Автором проведений статистичний аналіз результатів дослідження, написані розділи дисертації, сформульовані висновки роботи, практичні рекомендації, оформлені наукові публікації і автореферат, виконано впровадження результатів дослідження в практику. Дисертантом не було використано результатів і ідей співавторів публікацій.

**Апробація результатів дисертації.** Дисертаційну роботу було апробовано на спільному засіданні кафедр патологічної фізіології, гістології, фізіотерапії і лікувальної фізкультури з курсом нетрадиційної медиціни, Центральної науково-дослідної лабораторії Донецького національного медичного університету ім. М. Горького (квітень, 2008 ). Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені й обговорені на всеукраїнській науково-практичній та навчально-методичній конференції ”Фундаментальні науки – хірургії” (Полтава, 2007), на IХ международній конференції “Центральные и периферические механизмы вегетативной нервной системы” (Донецьк-Слов’янськ, 2007), науковій конференції “VI читання ім. В.В. Підвисоцького” (Одеса, 2007), 70-ї міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених “Актуальні проблеми клінічної, експериментальної, профілактичної медицини, стоматології та фармації” (Донецьк, 2008).

**Публікації.** Основні матеріали дисертаційної роботи опубліковані в 12 наукових працях, серед яких 6 статей в журналах, 2 статті у складі збірок наукових праць, визнаних ВАК України, і 4 роботи в матеріалах наукових конференцій.

**Структура и об’єм дисертації.** Дисертація викладена українською мовою на 141 сторінках тексту, складається зі вступу, 4 розділів (зокрема огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, 2 розділів власних досліджень), узагальнення і аналізу отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел літератури, який містить 220 найменувань (139 кирилицею і 81 латиницею). Роботу ілюстровано 11 таблицями і 18 рисунками.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріал та методи дослідження.** Експериментальні дослідження виконані на 194 білих безпородних щурах-самцях вагою 250-300 г, які утримувалися на стандартному раціоні при вільному доступі до їжі і води в умовах віварію НДІ травматології і ортопедії Донецького національного медичного університету ім. М. Горького. Підготовка тварин до експерименту, травмування і виведення з експерименту здійснювали при дотриманні загальних вимог і положень Європейської Конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких і інших наукових цілей (Страсбург, 1986), а також вирішень Першого національного конгресу біоетики (Київ, 2000) і за узгодженням з комісією з біоетики ДонНМУ.

Важку механічну травму і шок моделювали за допомогою модифікованого методу Кеннона (нанесення 50 ударів електромагнітним ударником по стегнах силою 250 Н/см2) (Ельский В. Н. и др., 2002). Вивчали тривалість життя, біохімічний статус, бактеріологічні показники, імунологічні показники і зв'язок між окремими біохімічними, імунологічними і мікробіологічними показниками при трьох типах розвитку посттравматичної реакції. Індивідуальну реактивність організму в динаміці ПТР визначали за допомогою модифікованого методу вимірювання шкірно-гальванічного рефлексу за допомогою показника “К”. Характер змін індивідуальної реактивності тварин, що визначався за вказаним способом, лежав в основі визначення типів посттравматичної реакції і мав важливе прогностичне значення.

Для оцінки об'єктивного статусу, ступеня розладів обмінних процесів в організмі експериментальних тварин при травмі, визначали ряд біохімічних параметрів. Їх спектр включав визначення в сироватці крові (на апараті Microlit) електролітів (натрію, калію, кальцію), загального білка та його фракцій, показників ліпідного обміну (холестерину, тригліцеридів, фракцій ліпопротеїдів), глюкози, СК, сечовини, креатиніну, а також активності ферментів: α-амілази, АсАТ та АлАТ, ЛФ-ази і КФ-ази, КФК, ЛДГ, ГГТ. Рівень маркера ендогенної інтоксикації МСМ визначали в сироватці крові скринінговим методом (Калашников В. С., 2002).

Посів крові на живильні середовища, виділення з неї мікроорганізмів і їх ідентифікацію проводили згідно вимогам, що пред'являються до бактеріологічних досліджень, які виконуються в клініко-діагностичних лабораторіях лікувально-профілактичних установ (Кочеровец В. И. и др., 1996). Кількісну оцінку складу мікробів і окремих структур грибів (уривки міцелія, макро- і мікроконідії, спори, конідіеносци і тому подібне), що виявляються в мазках крові, проводили шляхом прямого підрахунку згаданих об'єктів мікроскопії впродовж 4 см поверхні мазка. Число мікроскопічних об'єктів, що виявляються, виражали в % по відношенню до стандартного числа полів зору (100).

У периферичній крові у щурів підраховували загальну кількість лейкоцитів і визначали їх морфологічний склад (еозинофіли, базофіли, моноцити, нейтрофіли паличкоядерні, нейтрофіли сегменто-ядерні, лімфоцити) (Ярилин А. А., 1999).

Для оцінки виразності запальної відповіді організму вивчали в сироватці крові концентрацію прозапальних цитокінів: ІЛ-8, ІЛ-6 та ФНП-б. Вказані цитокіни виявляли методом твердофазного імуноферментного аналізу із застосуванням як індикаторний фермент пероксидази хрону.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили на IBM PC/AT із застосуванням ліцензійних пакетів Statistica 5.5 (Stat Soft Rus) та Stadia 6.1 (“Информатика и компьютеры”, Москва) (Кулаичев А. П., 1999; Лапач С. Н., 2000).

**Результати власних досліджень та їх обговорення.** Встановлено, що після нанесення важкої стандартної травми, розвиваються три типи посттравматичної реакції, названі С. Є. Золотухіним (Золотухин С. Е., 1998): “шоковим смертельним” (з тривалістю життя 18,2±2,5 години), “шоковим несмертельним” (з тривалістю життя 61,3±4,8 години) та “нешоковим” (з тривалістю життя 100,1±7,5 години). Відповідно, їх частота реєстрації знаходилася в співвідношенні (%): 38:31:31.

Для виявлення особливостей порушення метаболізму при важкій механічній травмі, що протікає у тварин з різними типами посттравматичної реакції, були визначені біохімічні показники крові у 40 експериментальних тварин. 10 щурів були в групі контролю (інтактні).

Особливості зміни показників, що характеризують електролітний, вуглеводний і білковий обмін у контрольних і тварин з I-III типами посттравматичної реакції містяться в таблиці 1.

У тварин з травмою показники калія, кальцію, сечовини і МСМ у сироватці крові змінювалися більшою мірою, чим показники натрію, креатиніну, СК, загального білка і його фракцій. Найбільших значень при шоковому смертельному типі досягали показники МСМ і сечовини. Вони, відповідно, на 129% і 108% перевищували рівень контролю. Найменших значень при шоковому смертельному типі посттравматичної реакції досягали показники кальцію. Вони знижувалися на 52% в порівнянні з даними контролю.

У тварин з травмою показники КФК, ЛДГ, АсАТ, АлАТ змінювалися сильніше, ніж б-амілаза, ГГТ, ЛФ- і КФ-аз. Ці показники мали менші відхилення від показників норми при не шоковому типі і великі – при шоковому смертельному. Зокрема, при шоковому смертельному типі посттравматичної реакції активність АсАТ, АлАТ, КФК і ЛДГ перевищувала рівень контролю більш, ніж в 6 разів.

*Таблиця 1*

**Біохімічні показники сироватки крові, що характеризують електролітний, вуглеводний і білковий обмін у контрольних і тварин з I-III типами посттравматичної реакції (M±m)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Біохімічні показники, од | Контроль (n=10) | Типи посттравматичної реакції | | |
| нешоковий (III)  (n=10) | шоковий несмертельний (II) (n=10) | шоковий смертельний (I) (n=10) |
| К+, ммоль/л | 4,1±0,15 | 4,95±0,181) | 5,33±0,151) | 5,97±0,251,2,3) |
| Na+, ммоль/л | 147,0±8,7 | 141,4±9,5 | 150,3±10,3 | 160,2±10,72) |
| Ca++, ммоль/л | 2,55±0,21 | 1,63±0,101) | 1,34±0,121) | 1,22±0,091,2) |
| Креатинін, мкмоль/л | 89,4±5,1 | 112,7±7,11) | 129,3±10,71) | 155,4±4,31,2,3) |
| Сечовина, ммоль/л | 7,5±0,49 | 8,6±0,59 | 10,7±1,21) | 15,6±1,11,2,3) |
| МК, мкмоль/л | 210,0±14,1 | 295,0±17,71) | 351,5±17,61) | 372,3±18,21,2) |
| Глюкоза, ммоль/л | 4,77±0,35 | 6,9±0,321) | 6,7±0,221) | 4,5±0,221,2,3) |
| Загальний| білок, г/л | 65,2±2,3 | 60,0±4,2 | 60,2±4,2 | 52,3±2,71) |
| Альбуміни, % | 51,8±0,75 | 48,7±1,6 | 48,7±3,1 | 45,2±2,41) |
| Глобуліни, % | 48,2±1,1 | 50,8±2,3 | 51,4±2,2 | 54,7±2,4 |
| б1-глобуліни, % | 5,01±0,43 | 5,41±0,28 | 6,11±0,551) | 6,6±0,521) |
| б2-глобуліни, % | 13,7±1,1 | 10,7±0,59 | 9,9±0,41) | 7,5±0,431,2,3) |
| в-глобуліни, % | 16,4±1,2 | 12,1±0,28 | 14,2±0,71 | 13,1±1,01) |
| г-глобуліни, % | 20,4±1,5 | 24,1±0,47 | 23,5±1,3 | 25,5±1,41) |
| МСМ 254 нм, Е/мл | 0,232±0,022 | 0,351±0,0421) | 0,363±0,032 | 0,531±0,0411,2,3) |

Примітки:

1. 1 – відмінності статистично достовірні в порівнянні з контрольною групою (p<0,05);

2. 2 – відмінності статистично достовірні в порівнянні з не шоковим типом посттравматичної реакції (p<0,05);

3. 3 – відмінності статистично достовірні в порівнянні з шоковим несмертельним типом посттравматичної реакції (p<0,05).

У тварин з травмою показники загального білірубіну, ДК, тригліцеридів змінювалися сильніше, ніж МДА, холестерину і фракцій ліпопротеїдів. Ці показники мали менші відхилення від показників контролю при не шоковому типі і великі – при шоковому смертельному типі посттравматичної реакції. При шоковому смертельному типі найбільш високих значень досягали показники білірубіну і ДК, що перевищували відповідно на 182% і 119% значення контролю.

Для виявлення ролі гіперметаболізму в патогенезі і для розробки прогностичних критеріїв тяжкості перебігу посттравматичної реакції у тварин в експерименті, нами були відібрані зі всіх вивчених біохімічних показників 11. Ці показники з різних сторін характеризували гіперметаболізм. Ось ці показники: “креатинін”, “сечовина”, “СК”, “глюкоза”, “загальний|спільний| білок”, “МСМ”, “холестерин”, “тригліцеріди|”, “МДА”, “ДК”, “білірубін”.

Для приведення значень цих показників до єдиної шкали змін щодо рівня контролю (показників інтактних тварин) нами обрані величини відносних коефіцієнтів “Кi”, які визначали за формулою:

,

де:  - середнє арифметичне значення величини одного з одинадцяти згаданих біохімічних показників при важкій механічній травмі;  - середнє значення однойменного біохімічного показника, шо визначався в контрольній групі тварин. У чисельнику представлена різниця значень біохімічних показників, узята по абсолютній величині.

З урахуванням того, що величини відносних показників “Кi” відображали ступінь виразності гіперметаболізму, показник “Кi” був названий нами “гіперметаболічним показником”.

Значення показників гіперметаболзму при трьох типах перебігу посттравматичної реації зазначені в таблиці 2. Найбільшими гіперметаболічними показниками були показники білірубіну, МСМ, ДК, сечовини, найменшими – глюкози, МДА, загального білка. При шоковому смертельному типі посттравматичної реакції високий рівень білірубіну, МСМ, ДК і сечовини свідчив про те, що на цьому етапі дослідження, коли були визначені ці однойменні біохімічні показники у тварин, в патогенезі посттравматичної реакції відбувалися зміни, які можна було описати за допомогою концепції “лімітуючих ланок” (Селезнев С. А., 1984). Зростання білірубіну в сироватці крові відображало порушення проникності клітинних мембран гепатоцитов і накопичення в печінці продуктів руйнування міоглобіну, що поступали із зруйнованих м'язових тканин. Високий рівень ДК і сечовини вказував на посилення процесів перекисного окислення ліпідів і розпаду білків. Саме ці порушення обміну домінували на даному етапі патогенезу і складали лімітуючі ланки.

*Таблиця 2*

**Значення показників гіперметаболізму (“Кi”) у тварин трьох типів перебігу посттравматичної реакції, %**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показники | Типи ПТР | | |
| не шоковий | шоковий не смертельний | шоковий смертельний |
| Креатинін | 26,06 | 44,63 | 73,8 |
| Сечовина | 14,68 | 42,67 | 108,0 |
| МК | 40,47 | 67,38 | 77,29 |
| Глюкоза | 44,65 | 40,46 | 5,66 |
| Загальний білок | 7,98 | 7,67 | 19,97 |
| МСМ | 51,29 | 56,47 | 128,89 |
| Холестерин | 30,0 | 3,45 | 36,2 |
| Тригліцеріди | 0 | 9,02 | 54,89 |
| МДА | 2,94 | 8,82 | 14,70 |
| ДК | 36,98 | 91,78 | 119,18 |
| Білірубін | 28,89 | 133,33 | 182,22 |

При гіперметаболізмі основним джерелом енергії стають амінокислоти і жирні кислоти. Вони утворюються в результаті цитолізу клітин покривних тканин, опорно-рухового апарату і внутрішніх органів, в першу чергу, органів шлунково-кишкового тракту, печінки, нирок, легенів і серця. Цитоз в наших дослідженнях підтверджувався гіперкаліємією і гіперферментемією. Зокрема, розпад м'язової тканини підтверджувався високою активністю КФК і КФ. Висока активність КФ-ази також говорила про руйнування еритроцитів і тромбоцитів. Гипертрансаміназемія і ГГТ свідчили про цитоліз кардиоцитов і гепатоцитов. Про руйнування епітеліальної тканини говорили зміни активності β-амилаз і ЛДГ. При шоковому смертельному типі посттравматичної реакції, на відміну від шокового несмертельного і нешокового типів, ефективність глюконеогенезу знижувалася, що приводило до ранньої летальності. На зниження ефективності глюконеогенезу при такому типі посттравматичної реакції вказувала низька величина глюкози і високі значення гіперметаболічних показників загального білка і тригліцеридів.

На ранньому етапі патогенезу посттравматичної реакції, зокрема при шокових типах цієї реакції, ми не побачили ознак, підтверджуючих положення про те, що при гіперметаболізмі гіперпотреба в субстратах метаболізму поєднується з толерантністю тканин до цих субстратів.

Найменший рівень коливання гіперметаболічних показників мав місце при нешоковому типі посттравматичної реакції.

У щурів контрольної серії при бактеріологічному дослідженні крові висівалися грампозитивні коки і мікродиплококи тільки в одиничних випадках (до 6%). У тварин з травмою збільшувалася частота висівання не тільки грампозитивних коків, але і грамнегативних паличок. У великій кількості висівалися E.coli, E.faecalis. Щільність посіву цих мікроорганізмів також була великою і складала 107-108 КОЕ. Із збільшенням тяжкості перебігу посттравматичної реакції, збільшувалася і частота висівання вказаних мікроорганізмів. При шоковому несмертельному типі посттравматичної реакції в крові з'являлися S.epidermidis і Candidae sp., а при шоковому смертельному - S.aureus і N.flavescens.

Показники висіваємості мікроорганізмів з крові у тварин свідчили про ендогенну міграцію ентеробактерій і грибів Candidae sp. з кишечника, а також із слизових оболонок дихального тракту (мікрококи, стафілококи, нейссерії). Явище міграції мікроорганізмів з кишечника в лімфатичні вузли черевної порожнини і далі в інші органи лімфатичної системи, а потім в кровотік, називають транслокацією (Deich E. A., Bridges R., 1987). Певною мірою транслокація грає важливу позитивну роль в захисті організму від інфекції, оскільки кишкові мікроби передають імунокомпетентним клітинам, що знаходяться в лімфатичних вузлах, антигени або інформацію про антигени збудників інфекційних захворювань, а ті синтезують специфічні антитіла, що беруть участь в механізмах імунітету. Надлишок мікроорганізмів кишкового походження в біологічних тканинах організму вказує на їх патогенне значення (Голосова Т. В., Файнштейн Ф. Э., Мартынова В. А., 1980). Виражена транслокація обумовлюється зниженням кислотності шлункового соку і моторики кишечника, зменшенням концентрації жовчних кислот, секреторних імуноглобулінів, пошкодженням слизистого бар'єру і ентероцитів (Семенов В. В., Пасечник И. Н., 2004). Дані літератури підтверджують можливість висівання з крові всіх виділених нами мікроорганізмів і їх етіологічну роль в сепсисі (Абаев Ю. К., 2005). S.epidermidis і S.aureus можуть також викликати ендокардит, інфекції ран і сечовивідних шляхів (Гаврилов В. А., 2006). В цілому, у тварин з різними прогностичними типами посттравматичної реакції, особливо при шокових типах, висіяні і ідентифіковані нами мікроорганізми були причиною мікробного і кандидозного сепсису. Вони також виступали як показники (симптоми) наявності в організмі системної запальної реакції.

Кількість мікробних тіл в 100 полях зору мікроскопа (%) у тварин після травми зростала. При нешоковому типі посттравматичної реакції це зростання перевищувало значення інтактних щурів в 2,9 раз, при шоковому несмертельному – в 3,9 рази, а при шоковому смертельному – в 5,8 разів. Збільшувалася також кількість мікробних асоціацій (%). При нешоковому типі посттравматичної реакції це зростання перевищувало значення аналогічних показників інтактних щурів в 4,5 рази, а при шокових типах відповідно в 5,9 і 8,4 разів. Чисельність грибкових асоціацій (%) також зростала відповідно типу посттравматичної реакції в 4,1; 6,6 і 9,5 разів. Зростання числа мікроорганізмів в мазках крові при важкій механічній травмі вказувало на зміну проникності фізіологічних бар'єрів і придушення глюкокортикоїдними гормонами, що виділяються при травмі в надлишку (Bone R. et al., 2004), імунологічній реактивності (Meisel-Mikolajczyk F., 1980). У крові, в результаті цього, циркулювали умовно патогенні грамнегативные (кишкові) палички, грамнегативні коки (S.epidermidis), а також патогенні грамнегативные диплококи (N.flavescens). Про посилення розмноження патогенних мікроорганізмів свідчило зростання асоціативних показників. Особливо сильно спостерігалося зростання асоціацій при шоковому смертельному типі посттравматичної реакції. У розвитку інтоксикації при травматичному шоці важливу роль могли грати ендотоксини (ліпополісахариди) і путресцин грам-негативної резидентної мікрофлори, що потрапили у внутрішні органи, кров, лімфу і регіонарні лімфовузли в результаті транслокації. Ендотоксини, у свою чергу, викликали активацію гіперметаболізму, що ще сильніше підсилювало інтоксикацію.

В цілому, збільшення в крові концентрації мікроорганізмів відображало розвиток системної запальної реакції при важкій механічній травмі і шоці.

Таким чином, зміна кількісних показників мікробної і грибкової обсемененності крові, а також складу мікроорганізмів у тварин з трьома прогностично різними типами посттравматичної реакції свідчить про те, що мікробний пейзаж і зростання мікрофлори знаходяться в причинно-наслідкових зв'язках з механізмами системної запальної реакції. При шокових типах посттравматичної реакції розвивається бактерійний сепсис. У його етіології беруть участь як грампозитивні, так і грамнегативні коки і палички. Структура сепсису при шоці залежить від тяжкості системних пошкоджень. Із зростанням тяжкості цих пошкоджень збільшується етіологічне значення грампозитивних коків S. epidermidis, S. aureus, N. flavscens, а також Candidae sp. Величина бактеріємії корелює з тривалістю життя тварин і в динаміці посттравматичної реакції має прогностичне значення. Вони нарівні з біохімічними показниками крові можуть бути використані як симптоми системної запальної реакції і додаткових критеріїв її тяжкості.

Концентрація цитокінів в сироватці крові зростала, зберігаючи тенденцію зростання від не шокового (мінімальна) до шокового смертельного (максимальна) типу посттравматичної реакції. Концентрація ІЛ-6 збільшувалася в 7,9 разів при нешоковому типі, в 12,3 разів - при нешоковому смертельному і в 22,9 разів - при шоковому типі посттравматичної реакції. Концентрація ІЛ-8 змінювалася сильніше: у 16.0, 17,0 і 20,9 разів відповідно згаданих типів посттравматичної реакції. Ступінь зміни ФНП-б була, в порівнянні з іншими цитокіни, меншою. Так при нешоковому типі концентрація ФНП-б була в 3,9 рази, при шоковому несмертельному – в 6,8 раз, а при шоковому смертельному – в 12,5 раз більшою, ніж в контролі.

Рис. 1. Зміна показників ІЛ-6, ІЛ-8 і ФНП-б в сироватці крові у тварин при нешоковому, шоковому несмертельному і шоковому смертельному типах посттравматичної реакції в експерименті

Отримані нами дані про зміну імунологічних показників при важкій механічній травмі свідчили про глибоку перебудову функціонування імунної системи в початковому періоді посттравматичної реакції. Лейкоцитарна реакція організму в цьому періоді, що характеризується як лейкоцитоз, а також зміни в лейкоцитарній формулі крові могли бути обумовлені нейроендокринним впливом, централізацією кровообігу і викидом крові з депо-органів (печінки, селезінки).

Підвищення в крові концентрації цитокінів могло бути обумовлене викидом і посиленням біосинтезу цих біологічно активних речовин клітинами крові (лейкоцитами, еритроцитами), клітинами тканинних макрофагів, синовіальними клітинами, ендотелієм, хондроцитами, остеокластами. Продукція цитокінів могла посилюватися в результаті механізмів нейроендокринного впливу і вторинного пошкодження тканинних клітин, особливо унаслідок порушення тканинної перфузії і надходження в кровотік з кишечника бактерійних токсинів.

Збільшення в крові тварин з посттравматичною реакцією концентрації ІЛ-6, ІЛ-8 І ФНП-б відображало розвиток феноменів системної запальної реакції і стресу (Sedlacek H. H., Moroy T., 2005).

На підставі отриманих даних слід вважати, що в структурі цитокінемії, що розвивається при важкій механічній травмі, збільшення частки ІЛ-6 більше 27,9%, а ФНП-б більше 13,6% при відповідному зменшенні частки ІЛ-8 менше 58,5% є прогностично несприятливими ознаками перебігу посттравматичної реакції. В цілому, знання структури цитокінового профілю сироватки крові на початковому етапі посттравматичної реакції може служити додатковим критерієм тяжкості перебігу і прогнозу цієї реакції.

**ВИСНОВКИ**

У дисертації представлене теоретичне обгрунтування результатів і досягнуте вирішення актуального наукового завдання – на підставі вивчення показників обмінних порушень (вуглеводів, білків і ліпідів), мікробіологічних показників і цитокіни ІЛ-6, ІЛ-8 і ФНП-б у тварин з важкою механічною травмою встановлені нові механізми гіперметаболізму, гіперреактивності імунної системи і структури бактерійного сепсису, що уточнює діагностику, прогноз і оцінку тяжкості посттравматичної реакції.

1. Стан гіперметаболізму при важкій механічній травмі відображають показники концентрації в сироватці крові креатиніну, сечовини, сечової кислоти, глюкози, загального білка, МСМ, холестерину, тригліцеридів, МДА, ДК, білірубіну. Сумарна оцінка показників гіперметаболізму, узятих у вигляді відносних величин зміни в динаміці травми до рівня до травми (у %), має оборотню кореляцію з тривалістю життя тварин і може служити додатковим критерієм тяжкості перебігу системної запальної реакції при важкій механічній травмі. Сумарна величина одинадцяти згаданих показників, що перевищує величину 25,8, вказує на високий ризик розвитку травматичного шоку і гіперметаболічного синдрому.

2. Ключовою ланкою гіперметаболізму при важкій механічній травмі є глюконеогенез. Основним джерелом енергії при гіперметаболізмі є амінокислоти і жирні кислоти. Вони утворюються в основному за рахунок цитолізу клітин покривних тканин, опорно-рухового апарату і внутрішніх органів. При шоковому смертельному типі посттравматичної реакції, на відміну від шокового несмертельного і нешокового типів, ефективність глюконеогенезу знижується, що призводить до ранньої летальності. На початковому етапі патогенезу посттравматичної реакції толерантності тканин до субстратів метаболізму немає.

3. Мікробний склад і виразність бактеріємії при важкій механічній травмі визначаються бактерійною і кандидозною транслокацією умовно-патогенної мікрофлори, що колонізує відкриті біоценози. При шокових типах посттравматичної реакції розвивається бактерійний сепсис. У його етіології беруть участь як грампозитивні, так і грамнегативні коки і палички. При шоковому смертельному типі посттравматичної реакції збільшується етіологічне значення грампозитивних коків S. epidermidis, S. aureus, N. flavescens, а також Candidae sp.

4. Кількість лейкоцитів, склад лейкоцитарної формули крові і концентрація прозапальних цитокіни ІЛ-6, ІЛ-8 і ФНП-б у сироватці крові на початковому етапі посттравматичної реакції відображають неадекватність регуляції метаболічних процесів і імунних реакцій відносно власної умовно-патогенної мікрофлори. Виразність гіперметаболізму корелює з рівнем прозапальних цитокінів. В основі несприятливого результату при шоковому смертельному типі посттравматичної реакції лежать крайні значення гіперметаболізму і гіперреактивності імунної системи організму. У сумарній прозапальній цитокіновій відповіді організму на механічне пошкодження збільшення частки ІЛ-6 більше 27,9%, а ФНП-б більше 13,6% разом із зниженням частки ІЛ-8 менше 58,8% є прогностично несприятливим щодо перебігу посттравматичної реакції.

5. Із збільшенням тяжкості стану тварин при важкій механічній травмі відбувається трансформація генералізованого запалення в сепсис. Мікробіологічні показники є не тільки діагностичними показниками, але і прогностичними критеріями перебігу і результату посттравматичної реакції. Кореляційні зв'язки, що виражені лінійними рівняннями, можуть бути використані для прогнозування тривалості життя експериментальних тварин при важкій механічній травмі та шоці.

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. При оцінці тяжкості системної запальної реакції при важкій механічній травмі та шоці необхідно враховувати метаболічні розлади, виражені як гіперметаболічні показники.

2. Найбільш інформативними гіперметаболічними показниками є показники концентрації в сироватці крові креатиніну, сечовини, СК, глюкози, загального білку, МСМ, холестерину, тригліцеридів, МДА, ДК, білірубіну. На наявність гіперметаболічного синдрому вказує сумарна величина цих гіперметаболічних показників, що перевищує рівень 25,8.

3. У сумарній прозапальній цитокиновій відповіді організму на механічне пошкодження збільшення частки ІЛ-6 більше 27,9%, а ФНП-б більше 13,6% разом зі зниженням частки ІЛ-8 менше 58,8% є прогностично несприятливим щодо перебігу посттравматичної реакції.

**ПЕРЕЛІК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Крюк А. Ю. Состояние гиперметаболизма у животных с тремя прогностически разными типами течения посттравматической реакции в эксперименте / А. Ю. Крюк // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2006. – Т. 15, № 2. – С. 136-140.

2. Крюк А. Ю. Особенности микрофлоры у животных при тяжелой посттравматической реакции / А. Ю. Крюк // Експериментальна і клінічна медицина. – 2007. – № 2. – С. 36-39.

3. Ельський В. Н. Оценка прогностической значимости провоспалительных цитокинов сыворотки крови животных при различных типах посттравматической реакции в эксперименте / В. Н. Ельський, Ю. Я. Крюк, А. Ю. Крюк // Вісник невідкладної і відновної медицини. – 2007. – Т. 8, № 1. – С. 150-153. (Особисто здобувачем проведено огляд літературних джерел, проведені експерименти, проведено аналіз і узагальнення результатів дослідження).

4. Золотухин С. Е. Изменение цитокинового профиля сыворотки крови в зависимости от тяжести течения посттравматической реакции в эксперименте / С. Е. Золотухин , Н. Н. Шпаченко, В. П. Коробов, А. Ю. Крюк // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2007. – Т. 2, № 4. – С. 65-69. (Особисто здобувачем проведені експериментальні дослідження, проведена статистична обробка даних, аналіз отриманих даних).

5. Золотухин С. Е. Структура бактериемии и сепсиса у животных с тремя прогностически разными типами течения тяжелой посттравматической реакции / С. Е. Золотухин, Н. Н. Шпаченко, А. В. Буфістова, А. Ю. Крюк // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2007. – Т. 7, В. 1-2 (17-18). – С. 36-39. (Особисто здобувачем проведені експериментальні дослідження, проведена статистична обробка даних, аналіз отриманих даних).

6. Гиперметаболизм при различных типах течения тяжелой механической травмы в эксперименте / С. Е. Золотухин, А. Ю. Крюк, Г. С. Аусси, Н. Н. Шпаченко, А. А. Баешко // Літопис травматології та ортопедії. – 2008. - № 1-2. – С. 102 – 105. (Особисто здобувачем проведені експериментальні дослідження, проведена статистична обробка даних, аналіз отриманих даних).

7. Крюк А. Ю. Изменение бактериологических показателей в крови у животных с тяжелой механической травмой / А. Ю. Крюк // Питання експериментальної та клінічної медицини – 2007. – В. 11, Т. 1. – С. 145-150.

8. Крюк А. Ю. Использование бактериологических показателей у животных для оценки тяжести посттравматической реакции / А. Ю. Крюк // Питання експериментальної та клінічної медицини – 2007. – В. 11, Т. 2. – С. 67-71.

9. Крюк А. Ю. Структура бактериемии и сепсиса у животных с тремя прогностически разными типами течения тяжелой посттравматической реакции / А. Ю. Крюк, С. Е. Золотухин, Н. Н. Шпаченко, А. В. Буфістова // Фундаментальні науки – хірургії : Всеукр. наук.-практ. та навч.-метод. конф., 5-6 квітня 2007 р. : матеріали конф. – Полтава, 2007. – 37 с.

10. Крюк А. Ю. Оценка значимости определения провоспалительных цитокинов сыворотки крови животных при различных типах посттравматической реакции в эксперименте для составления прогноза / А. Ю. Крюк // Центральные и периферические механизмы вегетативной нервной системы : междунар. конф., 23-25 мая 2007 г. : материалы конф. – Донецк, 2007. – 15 с.

11. Ельский В. Н. Биохимические критерии гиперметаболизма и оценка их прогностической значимости при различных типах течения посттравматической реакции в эксперименте / В. Н. Ельский, Ю. Я. Крюк, А. Ю. Крюк, Е. А. Кот // VI читання ім. В.В. Підвисоцького : наукова конф., 31 травня – 1 червня 2007 р. : матеріали конф. – Одеса, 2007. – 67 с.

12. Крюк А. Ю. Гиперметаболизм и биохимические показатели при различных типах течения посттравматической реакции в эксперименте / А. Ю. Крюк, Е. А. Кот // Актуальные проблемы клинической, экспериментальной, профилактической медицины, стоматологии и фармации : междунар. научно-практ. конф. : 2008 р. : матеріали конф. – Донецьк, 2008. – С. 54.

**АНОТАЦІЯ**

**Крюк О.Ю. Особливості патогенезу гіперметаболізму у системній запальній відповіді організму при тяжкій механічній травмі.-Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.- Донецький національний медичний університет ім.М.Горького МОЗ України, Донецьк, 2008.

Дисертаційну роботу присвячено вивченню патогенезу гіперметаболізму в концепції травматичної хвороби і визначенню критеріїв гіперметаболічних порушень обміну речовин при тяжкій механічній трамі і шоці на підставі простих і інформативних біохімічних показників (загального білка, креатиніну, сечовини, сечової кислоти, глюкози, молекул середньої маси, холестерину, тригліцеридів, малонового діальдегіду, дієнових коньюгатів, білірубіну) з метою створення медичних технологій прогнозування тяжкості перебігу посттравматичної відповіді в експерименті. Суммарна оцінка гіперметаболізму за біохімічними показниками має оборотню кореляцію з тривалістю життя тварин і може служити на практиці додатковим прогностичним критерієм тяжкості перебігу посттравматичної реакції. В роботі представлені дані про кількість лейкоцитів, склад лейкоцитарної формули крові і концентрації прозапальних цитокинів, склад мікроорганізмів в крові на початковому етапі при трьох типах посттравматичної реакції. Встановлено, що структура цитокінового профілю сироватки крові відображає тяжкість перебігу посттравматичної реакції, а мікробіологічні показники нарівні з іншими лабораторними показниками можуть бути використовані як додаткові критерії тяжкості перебігу посттравматичної реакції.

**Ключові слова:** тяжка механічна травма, посттравматична реакція, шок, гіперметаболізм, цитокінемія, ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП-α, бактеріемія, сепсіс.

**АННОТАЦИЯ**

**Крюк А.Ю. Особенности патогенеза гиперметаболизма в системном воспалительном ответе орагнизма при тяжелой мезанической травме.-Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология.- Донецкий национальный медицинский университет им.М.Горького МЗ Украины. Донецк, 2008.

Диссертация посвящена изучению патогенеза гиперметаболизма в концепции травматической болезни и определению критериев гиперметаболических нарушений обмена веществ при тяжелой механической травме и шоке на основании простых и информативных биохимических показателей (общего белка, креатинина, мочевины, мочевой кислоты, глюкозы, молекул средней массы, холестерина, триглицеридов, малонового диальдегида, диеновых конъюгат, билирубина) с целью создания медицинских технологий прогнозирования тяжести течения посттравматического ответа в эксперименте. Повышению диагностической значимости биохимических параметров способствует использование относительных показателей, выражающих сдвиги биохимических величин относительно контроля в %. Суммарная оценка гиперметаболизма по биохимическим показателям имеет обратную корреляцию с продолжительностью жизни животных и может служить на практике дополнительным критерием тяжести течения посттравматической реакции. Также, в работе представлены данные о количестве лейкоцитов, составе лейкоцитарной формулы крови и концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО-α в сыворотке крови на начальном этапе при нешоковом, шоковом несмертельном и шоковом смертельном типах посттравматической реакции. Подтверждено участие иммунной системы в формировании ключевых звеньев патогенеза травматической болезни. Установлено, что цитокины специфическим образом отражают выраженность нейроэндокринной и системной воспалительной реакции, а структура цитокинового профиля сыворотки крови – тяжесть течения посттравматической реакции. Так, увеличение доли ИЛ-6 более 27,9%, а ФНО-α более 13,6%, наряду с уменьшением доли ИЛ-8 менее 59,8% являются прогностически неблагоприятными признаками течения посттравматической реакции в эксперименте. Помимо этого, в диссертации представлены данные о структуре бактериемии и сепсиса у животных с тремя прогностически разными типами течения тяжелой посттравматической реакции. Показано, что изменение количественных показателей микробной и грибковой обсемененности крови, а также состава микроорганизмов у животных с тремя прогностически разными типами посттравматической реакции свидетельствует о том, что микробный рост и сам пейзаж микрофлоры находятся в причинно-следственных связях с механизмами посттравматической реакции. Они наравне с другими лабораторными показателями могут быть использованы в качестве дополнительных критериев тяжести течения этой реакции.

**Ключевые слова:** тяжелая механическая травма, посттравматическая реакция, шок, гиперметаболизм, цитокинемия, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α, бактериемия, сепсис.

**ANNOTATION**

**Kryuk O.Y. Hypermetabolism pathogenesis features in systemic inflammatory response in heavy mechanical trauma.-Manuscript.**

Dissertation for obtaining scientific degree of the candidate of medical science by speciality 14.03.04 – pathologic physiology.- Donetsk national medical university MH of Ukraine, Donetsk, 2008.

The dissertation is devoted to in-dept study of the hypermetabolism pathogenesis in traumatic disease. One of the main objectives was to define the hypermetabolism criterias in heavy mechanical trauma and shock based on simple and factual biochemical indexes (such as whole protein, creatinine, urea and uric acid, glucose, cholesterine, triglycerides, bilirubin and others) in order to create medical forecasting system of the posttraumatic response severity in experiment. It was found that overall hypermetabolism estimation has reverse connection with the lifespan of the animals and alone it can be used as additional prognostic criteria of severity of the posttraumatic reaction. Leucocytes amount and proinflammatory cytokines concentration in blood in different types of posttraumatic reaction are also presented. The structure of cytokines distribution in blood that represents the severity of the posttraumatic reaction is defined. Bacterial structure data in different types of posttraumatic reaction is showed. It is defined that bacterial structure data on par with other laboratorial indexes can be used as additional posttraumatic reaction severity criteria.

**Key words:** heavy mechanical trauma, posttraumatic reaction, shock, hypermetabolism, cytokinemia, IL-6, IL-8, TNF-б, bacteriemia, sepsis.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

|  |  |
| --- | --- |
| **АлАТ** | – аланінамінотрансфераза |
| **АсАТ** | – аспарагінамінотрансфераза |
| **ГГТ** | – гамма-глутамілтрансфераза |
| **ДК** | – дієнові кон’югати |
| **ІЛ** | – інтерлейкіни |
| **КФ** | – кисла фосфатаза |
| **КФК** | – креатининфосфокіназа |
| **ЛДГ** | – лактатдегідрогеназа |
| **МДА** | – малоновий діальдегід |
| **МСМ** | – молекули средньої маси |
| **ПТР** | – посттравматическая реакция |
| **СК** | – сечова кислота |
| **ФНП-α** | – фактор некрозу пухлини альфа |

Здано до набору 26.06.2008 р. Підписано до друку 27.06.2008 р.

Формат 60х90/16. Папір друкарський. Друк офсетний.

Ум.друк.арк. 0,9. Тираж 100 примірників. Замовлення 2821.

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Видавництво ДонНМУ

м. Донецьк, пр. Ілліча, 16

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>