

Α
13/05/2005

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΓΓΕΛΟΣ Μ. ΚΑΠΙΑΣ

ΚΑΙ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΓΝΙ <<Γ. ΧΑΤΖΗΚΩΣΤΑ>>

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ Κ. ΤΣΙΜΟΓΙΑΝΝΗΣ

179

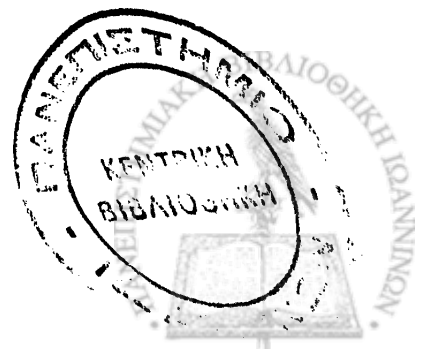
**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ (STRESS)
ΣΤΗΝ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ**

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Κ. ΓΚΛΑΝΤΖΟΥΝΗΣ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2004



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000200197



Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα (Νόμος 5343/32, άρθρο 202, § 2)



Ημερομηνία αιτήσεως: 23/12/1998

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 379α / 11/05/1999

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων:

Άγγελος Μ. Καππός, Καθηγητής Χειρουργικής

Μέλη:

Δημήτριος Γαλάρης, Αναπληρωτής Καθηγητής Βιοχημείας

Χρήστος Κάτσιος, Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 20/05/1999

Ημερομηνία καταθέσεως διδακτορικής διατριβής: 09/09/2004

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ:

Επαμεινώνδας Τσιάνος, Καθηγητής Παθολογίας

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Α.Μ. Καππός, Καθηγητής Χειρουργικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Θ. Ξενάκης, Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Ευ. Παρασκευαΐδης, Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Δ. Γαλάρης, Αν. Καθηγητής Βιοχημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Μ. Φατούρος, Αν. Καθηγητής Χειρουργικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Χρ. Κάτσιος, Επ. Καθηγητής Χειρουργικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Χαρ. Μπάτσης, Επ. Καθηγητής Χειρουργικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Η διδακτορική διατριβή έγινε αποδεκτή με βαθμό **“Άριστα”** ,

Η Γραμματέας της Σχολής

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΤΣΑΓΓΑΛΑ



Στην Άννα,

η συμπαράσταση της οποίας έπαιξε καθοριστικό ρόλο στην ολοκλήρωση του παρόντος πονήματος.



Στους γονείς μου

Στον Κωνσταντίνο, στην Κατερίνα, στη Φίλια



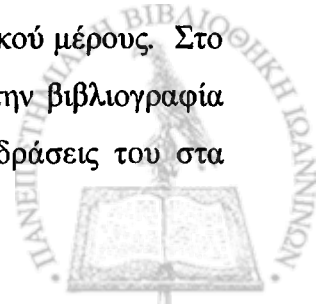
ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα τελευταία 15 χρόνια η λαπαροσκοπική χειρουργική έχει γνωρίσει αλματώδη εξέλιξη και σήμερα ένα μεγάλο ποσοστό επεμβάσεων σε πολλές χειρουργικές ειδικότητες γίνεται λαπαροσκοπικά. Τα πλεονεκτήματα από την εφαρμογή τεχνικών ελάχιστης επεμβατικότητας είναι πολλά: μικρότερο χειρουργικό τραύμα, καλύτερο αισθητικό αποτέλεσμα, μικρότερη μετεγχειρητική νοσηλεία και ταχύτερη επάνοδο στην εργασία. Για την εκτέλεση όμως λαπαροσκοπικών επεμβάσεων είναι απαραίτητη η δημιουργία πνευμοπεριτοναίου με την εισαγωγή αερίου (συνήθως διοξειδίου του άνθρακα) στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Παρόλο που τα πλεονεκτήματα της φιλικής προς τον ασθενή χειρουργικής τεχνολογίας έχουν παρουσιαστεί σε πολλές πειραματικές και κλινικές μελέτες, οι αντίστοιχες μελέτες της παθοφυσιολογίας του πνευμοπεριτοναίου είναι περιορισμένες. Ακόμη δε λιγότερες είναι οι μελέτες που ασχολούνται με τις τυχόν επιπτώσεις στον οργανισμό του συνδρόμου χαμηλής ροής ισχαιμίας - επαναιμάτωσης που δημιουργείται από την εισαγωγή και άρση του πνευμοπεριτοναίου.

Η μελέτη μιας νέας τεχνολογίας, με στόχο την συλλογή αξιόπιστων πληροφοριών για την αξιολόγηση της εφαρμογής της σε ομάδες ασθενών, είναι ηθική υποχρέωση σύμφωνα με τον Thomas Kuhh και όχι στείρα επιστημονική δραστηριότητα. Η δε συλλογή πληροφοριών μπορεί να προκύψει είτε από βασική έρευνα ή από κλινικές μελέτες.

Σκοπός του παρόντος πονήματος ήταν η διερεύνηση της τυχόν ύπαρξης οξειδωτικού stress μετά από λαπαροσκοπικές επεμβάσεις και η μελέτη των επιπτώσεων αυτού στην λειτουργία του οργανισμού. Για την επίτευξη του στόχου αυτού σχεδιάστηκε μία προοπτική κλινική μελέτη. Το υλικό της μελέτης προέρχεται από την Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική του Νοσοκομείου Δουρούτης και την Κρατική Χειρουργική Κλινική του Νοσοκομείου Χατζηκώστα. Οι εργαστηριακές εξετάσεις έγιναν στο Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας της Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων, στο Εργαστήριο Βιοχημείας του Χημικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και στα Βιοχημικά Εργαστήρια των δύο Νοσοκομείων.

Το πρώτο μέρος της παρούσης μελέτης αποτελείται από τρία εισαγωγικά κεφάλαια που δίνουν βασικές γνώσεις απαραίτητες για την κατανόηση του ειδικού μέρους. Στο πρώτο κεφάλαιο παρουσιάζονται οι υπάρχουσες πληροφορίες από την βιβλιογραφία σχετικά με την παθοφυσιολογία του πνευμοπεριτοναίου και τις επιδράσεις του στα



διάφορα όργανα του οργανισμού. Στο δεύτερο δίνεται ο ορισμός του οξειδωτικού stress και η βιολογική σημασία των ελευθέρων ριζών. Στο δε τρίτο οι βασικές αρχές της παθοφυσιολογίας του συνδρόμου ισχαιμίας-επαναμιάτωσης.

Στο δεύτερο μέρος της μελέτης παρουσιάζεται το υλικό, η μεθοδολογία, τα αποτελέσματα, η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και τα τελικά συμπεράσματα.

Σ' αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της διατριβής κ. Άγγελο Καππά, Καθηγητή Χειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για τις πολύτιμες συμβουλές του και την καθοριστική του βοήθεια στην πρόοδο και ολοκλήρωση της έρευνας.

Ευχαριστώ επίσης τον κ. Χρήστο Κάτσιο, Επίκουρο Καθηγητή Χειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και μέλος της τριμελούς επιτροπής, για τις πολύτιμες συμβουλές και παρατηρήσεις.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή Βιοχημείας κ. Δημήτριο Γαλάρη, μέλος της τριμελούς επιτροπής, ευχαριστώ θερμότατα για την πολύπλευρη συνεισφορά του: τη βοήθειά του στην κατανόηση των βασικών αρχών του θαυμαστού κόσμου των ελευθέρων ριζών και του οξειδωτικού stress, την πολύτιμη συμπαράστασή του στην ολοκλήρωση των εργαστηριακών εξετάσεων και στην διαδικασία συγγραφής της παρούσης εργασίας.

Ευχαριστώ επίσης θερμά τον κ. Αλέξανδρο Τσελέπη, Αναπληρωτή Καθηγητή Βιοχημείας στο Χημικό Τμήμα του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για την μύηση στις βασικές αρχές της εργαστηριακής έρευνας, την βοήθειά του στην ολοκλήρωση των εργαστηριακών εξετάσεων καθώς και για την καθοδήγηση κατά την συγγραφή της εργασίας.

Τον δάσκαλό μου κ. Ευάγγελο Τσιμογιάννη, Διευθυντή της Χειρουργικής Κλινικής του ΠΓΝΙ <<Γ. Χατζηκώστα>>, ευχαριστώ εκ βάθους καρδιάς για την συνεχή παρότρυνσή του ν' ασχοληθώ με την χειρουργική έρευνα, την συμβολή του στην επιλογή του θέματος, και την πατρική του συμπαράσταση στη διάρκεια εκπόνησης της μελέτης.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους κ.κ Θεοδωρή Λιαπικό και Αφροδίτη Ταμβάκη, συνεργάτες του Εργαστηρίου Βιοχημείας του Χημικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων καθώς και τους κ.κ Θωμά Χριστόφορο και Θωμά Τρικαλινό, συνεργάτες του Εργαστηρίου Βιολογικής Χημείας, της Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων, για την βοήθεια τους στην ολοκλήρωση των εργαστηριακών εξετάσεων.



Ακόμη ευχαριστώ τον κ. Γεώργιο Παπαδόπουλο, Καθηγητή Αναισθησιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και την κα Αδαμαντία Μανατάκη, Διευθύντρια Αναισθησιολογικής Κλινικής του ΠΓΝΙ <<Γ. Χατζηκώστα >> για την άψογη συνεργασία και την βοήθειά τους .

Επίσης, ευχαριστώ την κα Μαρία Κατέρη, στατιστικολόγο, για την βοήθεια στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και τον κ. Ιωάννη Τσίμαρη, ιατρό της Χειρουργικής Κλινικής του ΠΓΝΙ <<Γ. Χατζηκώστα>> για την βοήθεια στην συλλογή του υλικού.

Ευχαριστώ, ακόμη το ιατρικό και παραϊατρικό προσωπικό των Χειρουργικών, Αναισθησιολογικών τμημάτων και των Εργαστηρίων των δύο Νοσοκομείων για την πολύ καλή συνεργασία και την αμέριστη βοήθειά τους.

Τέλος, ευχαριστώ θερμότατα την φιλόλογο Μαρία Παπαευσταθίου - Τσάγκα για την γλωσσική επιμέλεια του κειμένου.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	7
---------------	---

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΝΕΥΜΟΠΕΡΙΤΟΝΑΙΟΥ

1.1 Ορισμός- Ιστορία πνευμοπεριτοναίου.....	12
1.2 Είδη αερίων για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου.....	14
1.3 Επίδραση του πνευμοπεριτοναίου στην κυκλοφορία των κάτω άκρων.....	16
1.4 Επιδράσεις του πνευμοπεριτοναίου στη μεσεντέριο κυκλοφορία και στην ηπατική αιμάτωση.....	18
1.5 Πνευμοπεριτόναιο και νεφρική λειτουργία.....	22
1.6 Επιδράσεις του πνευμοπεριτοναίου στην αναπνευστική και στην καρδι- αγγειακή λειτουργία.....	23
1.7 Πνευμοπεριτόναιο και ενδοκράνια πίεση.....	27
1.8 Πνευμοπεριτόναιο και ανοσοποιητικό σύστημα.....	29

B. ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS

2.1 Εισαγωγή.....	31
2.2 Ορισμός	32
2.3 Παραγωγή ελευθέρων ριζών και άλλων δραστικών μορφών οξυγόνου.....	33
2.4 Δραστικές μορφές οξυγόνου	35
2.5 Δραστικές μορφές αζώτου	38
2.6 Οξειδωτική πίεση (stress).....	41
2.7 Κυτταρικές καταστροφές από οξειδωτικό stress.....	44
2.8 Λιπιδιακή υπεροξειδωση.....	46
2.9 Αμυντικοί μηχανισμοί.....	52



Γ. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ – ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ	
3.1 Κυτταρικός μηχανισμός βλάβης κατά την ισχαιμία.....	57
3.2 Κυτταρικός μηχανισμός βλάβης κατά την επαναμιάτωση.....	58
3.3 Κλινικές επιπτώσεις του συνδρόμου ισχαιμίας - επαναμιάτωσης.....	62

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Δ. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	64
Ε. ΥΛΙΚΟ.....	66
ΣΤ. ΜΕΘΟΔΟΙ.....	67
6.1 Μέτρηση προϊόντων λιπιδιακής υπεροξειδωσης	67
6.2 Μέτρηση ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος.....	69
6.3 Μέτρηση επιπέδων ουρικού οξέος.....	73
6.4 Μέτρηση ηπατικών ενζύμων και χολερυθρίνης.....	73
Ζ. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	74
Η. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	75
Θ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	85
Ι. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	95
ΙΑ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	97
ΙΒ. SUMMARY.....	99
ΙΓ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	101



A. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΠΕΡΙΤΟΝΑΙΟΥ

1.1 Ορισμός- Ιστορία πνευμοπεριτοναίου

Με τον όρο πνευμοπεριτόναιο εννοούμε την εμφύσηση αερίου στην περιτοναϊκή κοιλότητα που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης και την δημιουργία ενιαίου χώρου μεταξύ κοιλιακών σπλάχνων και κοιλιακού τοιχώματος.

Ο πρώτος που ασχολήθηκε με τις επιπτώσεις της αύξησης της ενδοκοιλιακής πίεσης στην φυσιολογία του οργανισμού ήταν ο George Kelling, ένας Γερμανός χειρουργός στα τέλη του περασμένου αιώνα. Στην προσπάθεια του να αναπτύξει μία τεχνική για την μέτρηση του μεγέθους του στομάχου παρατήρησε πως η αύξηση του μεγέθους του στομάχου προξενούσε αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης (1).

Στη συνέχεια μελέτησε την χρήση του πνευμοπεριτοναίου ως θεραπευτικό μέσο για την αντιμετώπιση της γαστρορραγίας. Η υπόθεσή του ήταν πως η αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης σε επίπεδα της τάξης των 50-60 mm Hg, θα δημιουργήσει γαστρικό επιπωματισμό, με αποτέλεσμα το σταμάτημα της αιμορραγίας. Για να αποδείξει την υπόθεσή του ανέπτυξε ένα πειραματικό μοντέλο όπου χρησιμοποίησε κύνες ως πειραματόζωα (2). Την διαδικασία εγκατάστασης πνευμοπεριτοναίου την ονόμασε κοιλιοσκόπηση. Με την αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης μέτρησε τις αρτηριακές πιέσεις στην μηριαία αρτηρία και στην καρωτίδα. Βρήκε ότι η πίεση στην μηριαία αρτηρία παρέμεινε η ίδια, ενώ η πίεση στην καρωτίδα αυξανόταν κατά 10 %. Προσπάθησε να εφαρμόσει την τεχνική του σε δύο ασθενείς με αιμορραγία ανώτερου γαστρεντερικού, αλλά και οι δύο αρνήθηκαν.

Στη συνέχεια παρατήρησε πως τα ενδοκοιλιακά όργανα μπορούν να μελετηθούν με την εισαγωγή ενός trocar μετά την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου και χρησιμοποίησε ένα κυστεοσκόπιο για αυτό το σκοπό (3). Το 1923 πρότεινε την εκτέλεση γαστροσκόπησης με απευθείας διαδερμική προσπέλαση με την βοήθεια πνευμοπεριτοναίου (4).

Το 1911 ο Jacobeus, ένας χειρουργός από την Σουηδία, δημοσίευσε τις πρώτες του παρατηρήσεις από την χρήση του πνευμοπεριτοναίου σαν διαγνωστικό εργαλείο σε λαπαροσκοπικές και θωρακοσκοπικές επεμβάσεις (5).

Το ίδιο έτος ο Bemheim στο νοσοκομείο John Hopkins, στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, εξέτασε δύο ασθενείς με την βοήθεια πνευμοπεριτοναίου εισάγοντας ένα



μικρό πρωκτοσκόπιο διαμέσου του κοιλιακού τοιχώματος (6). Ονόμασε την διαδικασία οργανοσκόπηση.

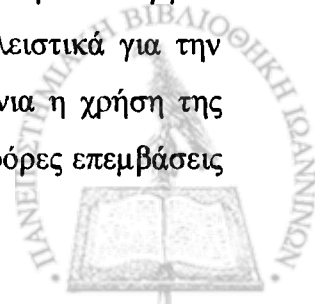
Όλοι οι ανωτέρω χρησιμοποίησαν αέρα για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου. Ο πρώτος που χρησιμοποίησε διοξείδιο του άνθρακα ήταν ο Zollikofer από την Ελβετία (7).

Έκτοτε υπήρξαν σποραδικές ανακοινώσεις από την Ευρώπη και τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής για την χρήση του πνευμοπεριτοναίου ως διαγνωστικό μέσο. Αυτός όμως που έδωσε πραγματική ώθηση στην χρησιμοποίησή του ήταν ο Γερμανός γαστρεντερολόγος Hans Kalk. Πρώτος αυτός εισήγαγε νέα εργαλεία και ιδέες για την δημιουργία ασφαλούς πνευμοπεριτοναίου. Χρησιμοποιούσε ένα ειδικό trocar όπου το μαχαιρίδιο αναπηδούσε αυτόματα προς τα πίσω μετά την εισαγωγή του trocar στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Εισήγαγε την χρήση του λαπαροσκοπίου 30° και την ταυτόχρονη χρήση δύο trocars (8). Ο Kalk είχε πολύ μεγάλη συμβολή στην ευρεία διάδοση της λαπαροσκόπησης στην Ευρώπη. Η λαπαροσκόπηση χρησιμοποιήθηκε κυρίως από τους ηπατολόγους για τον ακριβή εντοπισμό του σημείου όπου θα γινόταν η βιοψία ήπατος. Για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου χρησιμοποιούνταν αποκλειστικά ατμοσφαιρικός αέρας.

Για πολλές δεκαετίες ο ατμοσφαιρικός αέρας ήταν το αέριο επιλογής. Τα κύρια πλεονεκτήματα ήταν ότι ήταν φθηνός και εύκολα διαθέσιμος. Οι εμβολές από αέρα ήταν σπάνιες αλλά υπήρχαν (9).

Το 1938 ο Veress, ένας θωρακοχειρουργός από την Ουγγαρία, εισήγαγε την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου δια λεπτής βελόνης (10). Η τεχνική αυτή έγινε η μέθοδος επιλογής για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου σε ασθενείς που δεν είχαν υποβληθεί στο παρελθόν σε λαπαροτομία. Το 1971 ο Hasson περιέγραψε μία τροποποίηση της ανοιχτής τεχνικής, όπου, μέσω διατομής της λευκής γραμμής κάτωθεν του ομφαλού, το trocar εισάγεται υπό άμεση όραση (11). Η ανοιχτή τεχνική χρησιμοποιείται ως μέθοδος ρουτίνας σε αρκετά κέντρα, αλλά κυρίως χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις που υπάρχει ιστορικό επανεπεμβάσεων.

Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες η λαπαροσκόπηση χρησιμοποιήθηκε εκτεταμένα για διαγνωστικούς κυρίως σκοπούς από τους γυναικολόγους, ενώ τα τελευταία 15 χρόνια χρησιμοποιείται πολύ συχνά από τους χειρουργούς για την διενέργεια επεμβάσεων. Ενώ πριν από το 1990 χρησιμοποιήθηκε σχεδόν αποκλειστικά για την διενέργεια λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής, τα τελευταία 10 χρόνια η χρήση της στην γενική χειρουργική έχει γενικευθεί. Έτσι, πολύπλοκες και χρονοβόρες επεμβάσεις



σε όλα τα όργανα της κοιλίας (θολοπλαστικές, γαστρεκτομές, σπληνεκτομές, εντερεκτομές, νεφρεκτομές, παγκρεατεκτομές και ηπατεκτομές) μπορούν να γίνουν λαπαροσκοπικά και κάποιες από αυτές είναι πια επεμβάσεις ρουτίνας.

Όπως είναι αναμενόμενο η τεχνολογία των συσκευών και των εργαλείων που χρησιμοποιούνται για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου και για την εκτέλεση λαπαροσκοπικών επεμβάσεων έχει εξαιρετικά βελτιωθεί.

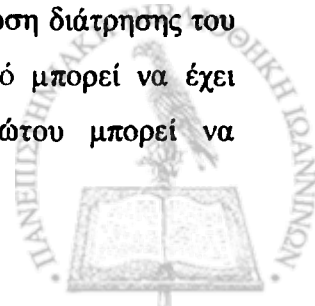
Κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα αέρια, τα χαρακτηριστικά των οποίων συζητούνται στο επόμενο κεφάλαιο. Το CO₂ όμως παραμένει ο πιο δημοφιλής και οικονομικός τρόπος για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου.

Συμπερασματικά, ο δρόμος ήταν μακρύς από την αρχική χρησιμοποίηση αέρα για τον έλεγχο της γαστρορραγίας μέχρι την χρήση ηλεκτρονικών συσκευών χορήγησης CO₂ για την εκτέλεση πολύπλοκων και χρονοβόρων χειρουργικών επεμβάσεων. Σ' όλη αυτή την πορεία το πνευμοπεριτόναιο αποτέλεσε το βασικό εργαλείο του ιατρού μέσω της δημιουργίας του κατάλληλου χώρου για την επισκόπηση των οργάνων της κοιλίας και την εισαγωγή των κατάλληλων εργαλείων.

Όπως όμως θα δούμε στην συνέχεια η δημιουργία πνευμοπεριτοναίου έχει επιπτώσεις στην φυσιολογία του οργανισμού και μερικές φορές δεν είναι άμοιρη επιπλοκών. Η κατανόηση της παθοφυσιολογίας του θα επιτρέψει την εκτέλεση λαπαροσκοπικών επεμβάσεων με ασφαλή τρόπο και με το μικρότερο δυνατό ποσοστό επιπλοκών.

1.2 Είδη αερίων για τη δημιουργία πνευμοπεριτοναίου

Τα αέρια που έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου είναι το διοξείδιο του άνθρακα, το οξείδιο του αζώτου, ο ατμοσφαιρικός αέρας, το οξυγόνο, το άζωτο και τα ευγενή αέρια ήλιο και αργό. Το ιδανικό αέριο θα έπρεπε να είναι μη τοξικό, άχρωμο, ευδιάλυτο στα βιολογικά υγρά, εύκολα αποβαλλόμενο από τους πνεύμονες, μη εύφλεκτο και φθινό. Το διοξείδιο του άνθρακα είναι σήμερα το αέριο εκλογής. Οι βασικοί λόγοι γι' αυτό είναι ότι το άζωτο, ο αέρας και το ήλιο δεν διαλύονται εύκολα και είναι πιθανό να οδηγήσουν σε θάνατο σε περίπτωση που συμβεί εμβολή με αέριο. Το οξείδιο του αζώτου και το οξυγόνο μπορεί να οδηγήσουν σε έκρηξη εάν αναμιχθούν με μεθάνιο, π.χ σε περίπτωση διάτρησης του εντέρου και μπορεί να προκαλέσουν ακόμη και θάνατο. Το αργό μπορεί να έχει σημαντικές αιμοδυναμικές επιπτώσεις. Το οξείδιο του αζώτου μπορεί να



χρησιμοποιηθεί για διαγνωστική λαπαροσκόπηση υπό τοπική αναισθησία γιατί ερεθίζει λιγότερο το περιτόναιο και δημιουργεί λιγότερο πόνο. Δεν μπορεί όμως να χρησιμοποιηθεί σε επεμβατική χειρουργική που χρειάζεται ηλεκτροδιαθερμία γιατί υπάρχει επίσης κίνδυνος έκρηξης (12).

Το διοξείδιο του άνθρακα είναι σχετικά αδρανές, επιτρέπει την χρήση ηλεκτροδιαθερμίας και απορροφάται εύκολα από το περιτόναιο. Είναι άχρωμο, ευδιάλυτο στο αίμα και απεκκρίνεται από τους πνεύμονες. Οι παρενέργειες που προκύπτουν από την χρήση του είναι αποτέλεσμα των επιπτώσεων της αυξημένης ενδοκοιλιακής πίεσης και της απορρόφησης του στην συστηματική κυκλοφορία. Κατά την εισαγωγή CO₂ στην περιτοναϊκή κοιλότητα για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου αυτό απορροφάται διαπεριτοναϊκά με αποτέλεσμα αύξηση των επιπέδων του στον ορό του αίματος. Αυτό συμβαίνει γιατί το CO₂ είναι πολύ ευδιάλυτο. Η αύξηση της pCO₂ στον ορό αντιροπείται από τα ρυθμιστικά διαλύματα του ορού, όπου λαμβάνει χώρα η κάτωθι αντίδραση:



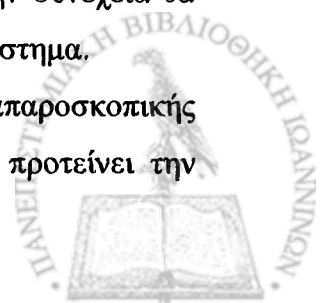
Ένας άλλος αντιροπιστικός μηχανισμός που λαμβάνει χώρα είναι η αποβολή της περίσσειας του CO₂ από τους πνεύμονες. Εάν η περίσσεια του CO₂ δεν μπορεί να αποβληθεί από τους πνεύμονες τότε τα ιόντα H⁺ συσσωρεύονται στην συστηματική κυκλοφορία και προκαλούν συστηματική οξέωση που αν δεν διορθωθεί μπορεί να προκαλέσει διαταραχές στην λειτουργία πολλών οργάνων.

Συνοπτικά, οι αλλαγές που σχετίζονται με την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου από διοξείδιο του άνθρακα είναι:

- I. αύξηση στην αρτηριακή και στην κεντρική φλεβική πίεση,
- II. αυξημένη φλεβική αντίσταση,
- III. πτώση καρδιακής παροχής,
- IV. αρρυθμία,
- V. μειωμένη αιματική ροή στα μεσεντέρια αγγεία και στην πυλαία φλέβα,
- VI. υπερκαπνία,
- VII. οξέωση, και,
- VIII. αυξημένη απελευθέρωση βασοπρεσίνης.

Παρόλο που οι επιδράσεις αυτές λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα, στην συνέχεια θα περιγραφούν αναλυτικά οι επιδράσεις του πνευμοπεριτοναίου σε κάθε σύστημα.

Μερικοί ερευνητές για να διατηρήσουν τα πλεονεκτήματα της λαπαροσκοπικής χειρουργικής σε ασθενείς με καρδιοαναπνευστικά προβλήματα έχουν προτείνει την



χρήση του ευγενούς αερίου ηλίου για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου. Η χρήση ηλίου δεν δημιουργεί υπερκαπνία, οξυαιμία και πνευμονική υπέρταση (13). Πρόσφατες όμως μελέτες έχουν δώσει αντικρουόμενα αποτελέσματα (14;15) για την υπεροχή του ηλίου έναντι του CO₂ και γενικά η υπάρχουσα βιβλιογραφία προτείνει την χρήση ηλίου για την εκτέλεση λαπαροσκοπικών επεμβάσεων κυρίως στα πλαίσια ερευνητικών πρωτοκόλλων (16).

1.3 Επίδραση του πνευμοπεριτοναίου στην κυκλοφορία των κάτω άκρων

Οι λαπαροσκοπικές επεμβάσεις όπως είναι γνωστό εκτελούνται κάτω από γενική αναισθησία, με ενδοκοιλιακή πίεση της τάξης των 12-15 mm Hg και τον ασθενή κατά κανόνα σε αντι-Trendelenburg θέση, ειδικά για επεμβάσεις της άνω κοιλίας. Όλες αυτές οι παράμετροι μπορούν να οδηγήσουν σε φλεβική στάση και σε αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης. Πειραματικές (17) και κλινικές μελέτες (18;19) έδειξαν ότι πνευμοπεριτόναιο της τάξης των 14 mm Hg δημιουργεί φλεβική στάση στα κάτω άκρα, μειώνοντας την φλεβική χωρητικότητα και την φλεβική ροή στις μηριαίες φλέβες. Αυτές οι μεταβολές είναι πιο έντονες στο αριστερό άκρο, πιθανότατα λόγω ανατομικών αιτιών. Η δε μείωση της ενδοκοιλιακής πίεσης από τα 15 mm Hg στα 11 mm Hg είχε ως αποτέλεσμα βελτίωση της φλεβικής ροής κατά 54%. Μία άλλη κλινική μελέτη (20) έδειξε ότι η διάμετρος και η πίεση της μηριαίας φλέβας αυξάνονται σημαντικά με την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου της τάξης των 15 mm Hg. Όταν όμως η ενδοκοιλιακή πίεση μειωνόταν στα 11 mm Hg, η φλεβική πίεση μειωνόταν κατά 20 %. Έχει προταθεί ότι η αύξηση της διαμέτρου της μηριαίας φλέβας μπορεί να οδηγήσει σε μικρορήξεις του αγγειακού ενδοθηλίου (21).

Ένα άλλο στοιχείο που μελετήθηκε ήταν οι μεταβολές στην ηπικτικότητα κατά την μετεγχειρητική περίοδο σε ασθενείς που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπικές επεμβάσεις. Παρατηρήθηκε ότι ασθενείς που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή (22) ή σε λαπαροσκοπική θολοπλαστική κατά Nissen (23) παρουσιάζουν υπερπηκτικότητα κατά την μετεγχειρητική περίοδο.

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα είναι προφανές πως οι δύο από τους τρεις παράγοντες της τριάδας του Virchow, η φλεβική στάση και η υπερπηκτικότητα είναι παρόντες κατά την διάρκεια λαπαροσκοπικών επεμβάσεων. Υπάρχει επίσης πιθανότητα και ο τρίτος παράγοντας, οι μεταβολές του αγγειακού τοιχώματος να λαμβάνουν χώρα μέσω μικρορήξεων του αγγειακού ενδοθηλίου. Παρόλα αυτά η συχνότητα φλεβικής θρόμβωσης και πνευμονικής εμβολής, όταν λαμβάνονται κατάλληλα προφυλακτικά

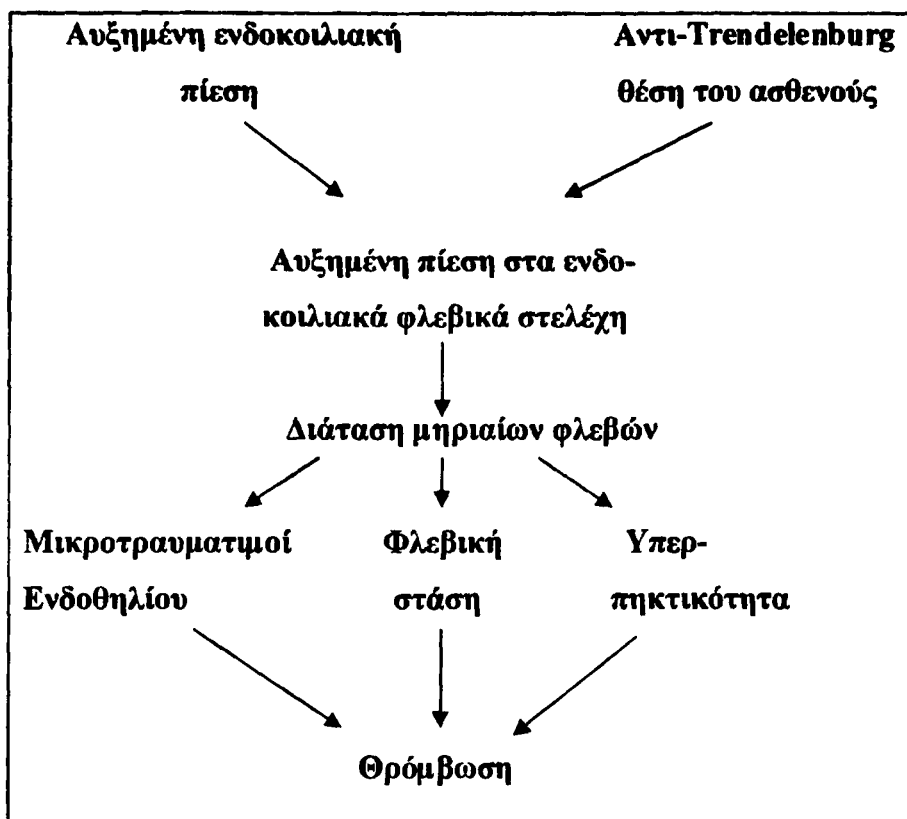


μέτρα είναι πολύ μικρή (24) και πιθανότατα μικρότερη από αυτή που παρατηρείται κατά την ανοιχτή χειρουργική, αν και δεν υπάρχουν ακόμη συγκριτικές προοπτικές τυχαιοποιημένες μελέτες. Πιθανοί λόγοι γι' αυτή την διαφορά είναι το μικρότερο εγχειρητικό τραύμα, ο μικρότερος χρόνος μετεγχειρητικής νοσηλείας και η πρωϊμότερη κινητοποίηση του ασθενούς στις λαπαροσκοπικές επεμβάσεις. Μία άλλη σημαντική διαφορά μεταξύ ανοιχτής και λαπαροσκοπικής χειρουργικής είναι το ότι η θρομβοεμβολική νόσος παρατηρείται νωρίτερα στις λαπαροσκοπικές επεμβάσεις (3^η – 5^η μετεγχειρητική ημέρα) σε σχέση με τις ανοιχτές (2^η μετεγχειρητική εβδομάδα). Αυτό ίσως δείχνει ότι το κύριο αίτιο είναι οι διεγχειρητικές επιπτώσεις στην κυκλοφορία των κάτω άκρων. Στο σχήμα 1 φαίνονται οι βασικοί μηχανισμοί μέσω των οποίων η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση επιδρά στα κάτω άκρα.

Για να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης θρομβοεμβολικής νόσου είναι απαραίτητο να λαμβάνονται προληπτικά μέτρα (25;26), όπως:

- I) εφαρμογή πνευμοπεριτοναίου με χαμηλή ενδοκοιλιακή πίεση,
- II) επαναφορά του ασθενούς από την αντι-Trendelenburg θέση στην φυσιολογική όσον το δυνατόν πιο γρήγορα, και
- III) χρήση των προληπτικών μέτρων που εφαρμόζονται στην ανοιχτή χειρουργική (27-29) (ηπαρίνη ή ηπαρίνες χαμηλού μοριακού βάρους και συσκευές εφαρμογής διαλείπουσας πίεσης στα κάτω άκρα).



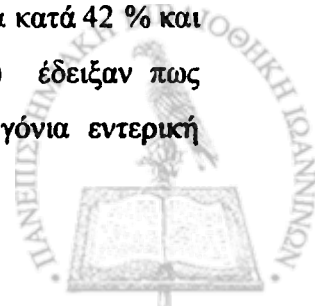


Σχήμα 1: Επίδραση πνευμοπεριτοναίου στην φλεβική κυκλοφορία των κάτω άκρων

1.4 Επίδρασεις του πνευμοπεριτοναίου στη μεσεντέριο κυκλοφορία και στην ηπατική αιμάτωση

Όπως αναφέρθηκε ήδη, η δημιουργία πνευμοπεριτοναίου αυξάνει την ενδοκοιλιακή πίεση. Η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση έχει ως αποτέλεσμα την άμεση συμπίεση των κοιλιακών αγγείων. Παράλληλα, χημικές και ενδοκρινικές μεταβολές λαμβάνουν χώρα ως αποτέλεσμα της υπερκαπνίας και της οξέωσης και όλα μαζί συνεισφέρουν στην δημιουργία σπλαχνικής ισχαιμίας.

Η πρώτη πειραματική μελέτη (30) που έδειξε ότι η μεσεντέριος κυκλοφορία επηρεάζεται από την αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση δημοσιεύτηκε το 1985. Η μελέτη αυτή έδειξε πως προοδευτική αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης από 0 στα 40 mm Hg μείωσε την αιματική ροή στην κοιλιακή και την άνω μεσεντέρια αρτηρία κατά 42 % και 61 % αντίστοιχα. Στην συνέχεια, δύο πειραματικές μελέτες (31;32) έδειξαν πως ενδοκοιλιακή πίεση της τάξης των 10 mm Hg μείωσε την βλεννογόνια εντερική

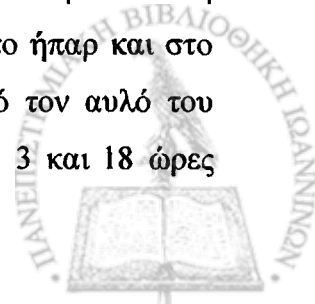


μικροκυκλοφορία κατά 81 % και τη ροή στην πυλαία κατά 27 %, ενώ ενδοκοιλιακή πίεση της τάξης των 20 mm Hg μείωσε την πυλαία ροή κατά 65 % . Στις ανωτέρω μελέτες για την αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης χρησιμοποιήθηκε υδροπεριτόναιο ή εμφύσηση αέρα σε σάκο τοποθετημένο ενδοκοιλιακά.

Η πρώτη πειραματική μελέτη που χρησιμοποίησε πνευμοπεριτόναιο για να μελετήσει την επίδραση της ενδοκοιλιακής πίεσης στην σπλαχνική κυκλοφορία, δημοσιεύτηκε το 1993 (33). Σ' αυτή την μελέτη χρησιμοποιήθηκαν κύνες ως πειραματόζωα. Πνευμοπεριτόναιο της τάξης των 14 mm Hg είχε ως αποτέλεσμα τριπλάσια αύξηση της πίεσης στην πυλαία φλέβα, μείωση της εντερικής μικροκυκλοφορίας κατά 50 % και σημαντική μείωση του pH του εντερικού βλεννογόνου. Το ίδιο έτος, μία άλλη πειραματική μελέτη (34) έδειξε πως εμφύσηση πνευμοπεριτοναίου με ενδοκοιλιακή πίεση της τάξης των 16 mm Hg μειώνει σημαντικά την αιματική ροή στην άνω μεσεντέρια αρτηρία και στην πυλαία φλέβα . Η μείωση αρχίζει 30 λεπτά μετά την εγκατάσταση του πνευμοπεριτοναίου. Οι μεταβολές αποκαταστάθηκαν στα φυσιολογικά επίπεδα αμέσως μετά την άρση του πνευμοπεριτοναίου.

Όλες οι ανωτέρω πειραματικές μελέτες δείχνουν πως ενδοκοιλιακή πίεση της τάξης των 10 –15 mm Hg, επηρεάζει σημαντικά την αιματική ροή στη μεσεντέριο κυκλοφορία και την πυλαία φλέβα. Αυτές οι μεταβολές όμως, έχουν άμεσες επιπτώσεις και στην ηπατική κυκλοφορία, αφού οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν την ηπατική αιματική ροή είναι οι αντιστάσεις στο δίκτυο της ηπατικής αρτηρίας, των μεσεντέριων αγγείων και των ενδοηπατικών πυλαίων φλεβιδίων (35). Υπό συνθήκες αυξημένης ενδοκοιλιακής πίεσης, οι αυξημένες αντιστάσεις στην μεσεντέριο κυκλοφορία μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την ηπατική αιματική ροή. Σύμφωνα με τον νόμο του Poiseuille, η ροή μέσα από ένα σωλήνα είναι ανάλογη με την τέταρτη δύναμη του μήκους της ακτίνας του (36). Τυχόν μείωση λοιπόν της διαμέτρου μιας μεσεντέριας φλέβας κατά 50 % θα μείωνε την αιματική ροή στο 1/16 της αρχικής.

Μία σημαντική πειραματική μελέτη (37) χρησιμοποίησε επίμυες ως πειραματόζωα και μελέτησε τις επιδράσεις πνευμοπεριτοναίου της τάξης των 15 mm Hg για 60 λεπτά σε διάφορες παραμέτρους. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν η εντερική μικροκυκλοφορία, η μεταβολική δραστηριότητα του γαστρεντερικού και η λιπιδιακή υπεροξειδωση ως δείκτης παραγωγής ελευθέρων ριζών στο έντερο, στο ήπαρ και στο σπλήνα. Επίσης μελετήθηκε η τυχόν μετανάστευση βακτηριδίων από τον αυλό του εντέρου στους μεσεντέριους λεμφαδένες, στο ήπαρ και στον σπλήνα 3 και 18 ώρες



μετά από την άρση του πνευμοπεριτοναίου. Βρέθηκε ότι η εντερική μικροκυκλοφορία και η μεταβολική δραστηριότητα του γαστρεντερικού ελαττώθηκαν σημαντικά με την εισαγωγή του πνευμοπεριτοναίου. Η λιπιδιακή υπεροξειδωση ήταν σημαντικά αυξημένη σε όλα τα όργανα που μελετήθηκαν 30 λεπτά μετά από την άρση του πνευμοπεριτοναίου. Μετανάστευση βακτηριδίων έλαβε χώρα στους μεσεντέριους λεμφαδένες, στο ήπαρ και στον σπλήνα 3 ώρες μετά την άρση του πνευμοπεριτοναίου, ενώ στις 18 ώρες δεν βρέθηκαν μικρόβια στους μεσεντέριους λεμφαδένες, αλλά ήταν ακόμη παρόντα στο ήπαρ και στον σπλήνα. Οι συγγραφείς συμπέραναν πως, παρόλο που τα ευρήματα είναι εντυπωσιακά, θα ήταν σημαντικό να αναπαραχθούν σε κλινικές μελέτες και να διευκρινιστεί επίσης η κλινική τους σημασία.

Η ιδιαίτερη αξία της παραπάνω μελέτης έγκειται στο γεγονός πως για πρώτη φορά αναγνωρίζεται ο ρόλος της εισαγωγής και της άρσης του πνευμοπεριτοναίου ως μοντέλο ισχαιμίας – επαναμιάτωσης και υπάρχει η ένδειξη πως οι ελεύθερες ρίζες είναι δυνατόν να εμπλέκονται στην πρόκληση ιστικής βλάβης.

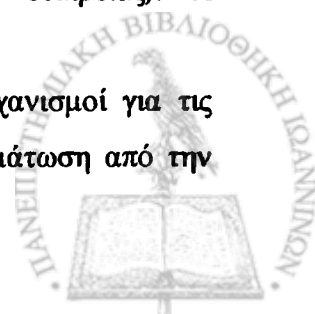
Μία άλλη πειραματική μελέτη έδειξε ότι πνευμοπεριτόναιο μεγαλύτερο από 12 mm Hg με το πειραματόζωο σε αντι-Trendelenburg θέση, μειώνει σημαντικά την ηπατική αιματική ροή (38).

Η παρούσα ερευνητική εργασία βασίστηκε αρκετά στα πειραματικά ευρήματα των ανωτέρω μελετών και προσπάθησε να διερευνήσει την τυχόν ύπαρξη οξειδωτικού stress και τις πιθανές επιπτώσεις του σε ασθενείς που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπικές επεμβάσεις.

Φυσικά, οι ανωτέρω πειραματικές μελέτες είναι δύσκολο να αναπαραχθούν πλήρως σε κλινικό επίπεδο, κυρίως για μεθοδολογικούς και ηθικούς λόγους.

Οι υπάρχουσες κλινικές μελέτες δείχνουν ότι κατά την διάρκεια λαπαροσκοπικών επεμβάσεων η ηπατική μικροκυκλοφορία μειώνεται σημαντικά (39). Όσον αφορά το γαστρικό pH, τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα (39;40). Δύο άλλες κλινικές μελέτες δείχνουν ότι τα ηπατικά ένζυμα αυξάνονται μετά από λαπαροσκοπικές επεμβάσεις και η αύξηση αυτή σχετίζεται με την διάρκεια του πνευμοπεριτοναίου και την θέση του ασθενούς (41;42). Στις μελέτες αυτές οι ασθενείς που συμμετείχαν δεν έπασχαν από συστηματικά νοσήματα (κατηγορίες ASA I και II, σύμφωνα με τα κριτήρια της αμερικανικής αναισθησιολογικής εταιρείας). Η μετεγχειρητική πορεία ήταν ομαλή.

Το ερώτημα που ανακύπτει είναι ποιοι είναι οι πιθανοί μηχανισμοί για τις μεταβολές αυτές στην μεσεντέριο κυκλοφορία και στην ηπατική αιμάτωση από την



εφαρμογή του πνευμοπεριτοναίου. Από την ανάλυση των στοιχείων της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι η αιτιολογία είναι πολυπαραγοντική.

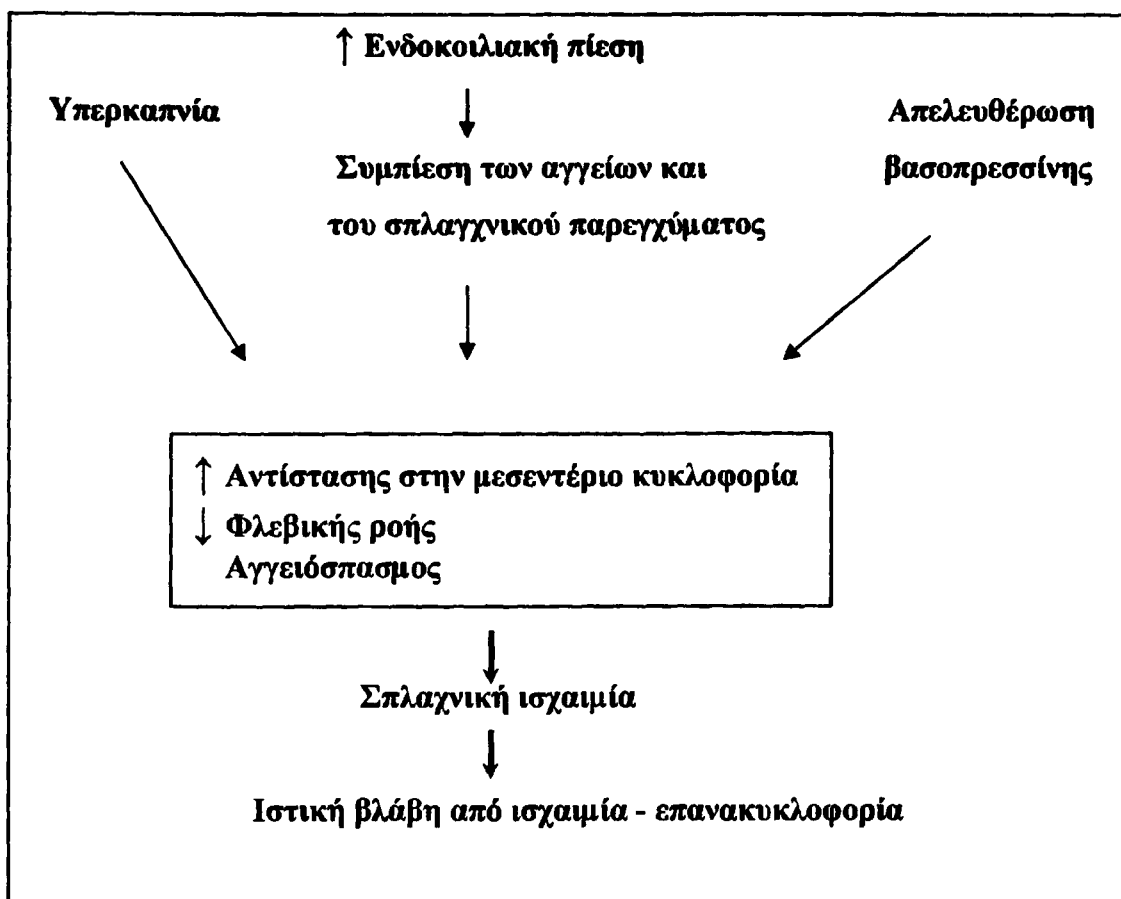
Πρώτα απ' όλα η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση συμπιέζει μηχανικά τις αρτηρίες, τις φλέβες, τα ενδοκοιλιακά όργανα και το κοιλιακό τοίχωμα. Κυρίως συμπιέζονται τα σπλαχνικά τριχοειδή με αποτέλεσμα την αύξηση των αντιστάσεων στην σπλαχνική κυκλοφορία. Το δεύτερο αγγειακό στοιχείο που συμπιέζεται είναι οι φλέβες, με αποτέλεσμα τη μείωση της φλεβικής ροής. Ιδιαίτερα, η συμπίεση της πυλαίας οδηγεί σε στάση στην μεσεντέριο κυκλοφορία, σε αύξηση της ενδαγγειακής πίεσης και σε αντανακλαστικό αγγειόσπασμο (30;43).

Ένας άλλος παράγοντας που φαίνεται να παίζει ρόλο είναι η υπερκαπνία λόγω της απορρόφησης CO₂ στην συστηματική κυκλοφορία. Η υπερκαπνία προκαλεί συμπαθητικοτονία, που με την σειρά της επιφέρει αγγειόσπασμο στα περιφερικά και στα μεσεντέρια αγγεία (44).

Η απελευθέρωση βασοπρεσσίνης κατά την διάρκεια λαπαροσκοπικών επεμβάσεων, είτε από το κεντρικό νευρικό σύστημα (30) είτε από το γαστρεντερικό φαίνεται να συνεισφέρει στην σπλαχνική ισχαιμία, καθότι η βασοπρεσσίνη έχει αγγειοσυσπαστική δράση στα σπλαχνικά αγγεία (45). Επίσης, υπάρχουν ενδείξεις πως απελευθερώνονται και άλλες ουσίες με αγγειοσυσπαστική δράση (46).

Στο σχήμα 2 απεικονίζονται οι βασικοί μηχανισμοί που συνεισφέρουν στην σπλαχνική ισχαιμία κατά την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου.





Σχήμα 2: Επίδραση πνευμοπεριτοναίου στην σπλαχνική κυκλοφορία

1.5 Πνευμοπεριτόναιο και νεφρική λειτουργία

Η πρώτη φορά που διαπιστώθηκε συσχέτιση της αυξημένης ενδοκοιλιακής πίεσης και της νεφρικής λειτουργίας ήταν το 1923, όπου σε πειραματική μελέτη διαπιστώθηκε ότι ενδοκοιλιακή πίεση της τάξης των 15 –30 mm Hg προκαλεί ολιγουρία, ενώ πίεση μεγαλύτερη των 30 mm Hg προκαλεί ανουρία (47). Η πρώτη πειραματική μελέτη (48) που μελέτησε τις αιμοδυναμικές επιπτώσεις του πνευμοπεριτοναίου στην νεφρική λειτουργία, έγινε το 1996. Στην μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν χοίροι ως πειραματόζωα, το πνευμοπεριτόναιο ήταν της τάξης των 15 mm Hg και μετρήθηκε η νεφρική αιμάτωση του φλοιού. Βρέθηκε ότι η νεφρική αιματική ροή μειώθηκε σημαντικά μετά την εγκατάσταση του πνευμοπεριτοναίου σε σχέση με τα αρχικά



επίπεδα. Η αιματική ροή επανήλθε στα φυσιολογικά επίπεδα μετά την άρση του πνευμοπεριτοναίου.

Πρόσφατες πειραματικές μελέτες έχουν δείξει πως η νεφρική δυσλειτουργία που προκαλείται από την δημιουργία του πνευμοπεριτοναίου σχετίζεται άμεσα με την διάρκεια του πνευμοπεριτοναίου (49), η δε καλή ενυδάτωση του ασθενούς κατά την διάρκεια μιας λαπαροσκοπικής επέμβασης, δρα προστατευτικά στην νεφρική λειτουργία (50).

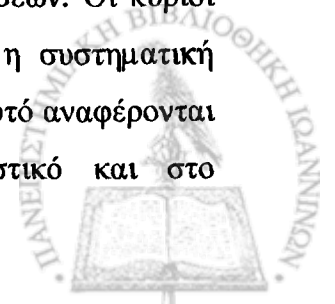
Πρόσφατη κλινική μελέτη (51) (περίπτωση ασθενούς) περιγράφει ανάπτυξη οξείας νεφρικής ανεπάρκειας σε έδαφος χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας, όπου το πνευμοπεριτόναιο φέρεται να είναι ο κύριος αιτιοπαθογενετικός παράγοντας.

Η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση μειώνει τη νεφρική αιμάτωση και τη νεφρική λειτουργία, μέσω της μείωσης της καρδιακής παροχής, αλλά κυρίως με άμεση επίδραση στην νεφρική αιμάτωση και αύξηση των αγγειακών αντιστάσεων. Η αύξηση των αγγειακών αντιστάσεων οφείλεται σε πολλούς παράγοντες. Πρώτα απ' όλα μπορεί να οφείλεται σε άμεση συμπίεση του νεφρικού παρεγχύματος (52). Δεύτερον, οι νεφρικές φλέβες συμπιέζονται, η φλεβική ροή μειώνεται και αυτό, δευτερογενώς, μειώνει την νεφρική αιματική ροή. Τρίτον, νευρογενή ή ορμονικά αίτια είναι δυνατόν να προκαλέσουν αγγειοσύσπαση. Η υπερκαπνία από την απορρόφηση του CO₂ στην συστηματική κυκλοφορία προκαλεί συμπαθητικοτονία. Έχει βρεθεί επίσης πως η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση προκαλεί έκκριση βασοπρεσσίνης, ρενίνης και αλδοστερόνης (53).

Όλοι αυτοί οι παράγοντες προκαλούν μείωση της νεφρικής αιματικής ροής, μείωση του ρυθμού σπειραματικής διήθησης, με τελικό αποτέλεσμα ολιγουρία ή ανουρία και αύξηση στον ορό των επιπέδων ουρίας και κρεατινίνης.

1.6 Επιδράσεις του πνευμοπεριτοναίου στην αναπνευστική και στην καρδιαγγειακή λειτουργία

Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η αναπνευστική και η καρδιαγγειακή λειτουργία επηρεάζονται σημαντικά κατά την διάρκεια λαπαροσκοπικών επεμβάσεων. Οι κύριοι παράγοντες επιρροής είναι η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση και η συστηματική απορρόφηση του CO₂ στην συστηματική κυκλοφορία. Στο κεφάλαιο αυτό αναφέρονται αναλυτικά οι επιδράσεις του πνευμοπεριτοναίου στο αναπνευστικό και στο



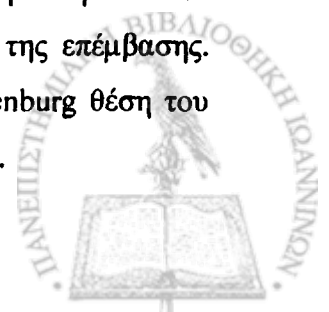
καρδιαγγειακό σύστημα καθώς και τρόποι αντιμετώπισης των αρνητικών συνεπειών αυτών, ιδιαίτερα σε ασθενείς υψηλού κινδύνου.

1.6.1. Πνευμοπεριτόναιο και αναπνευστική λειτουργία

Η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της κινητικότητας του διαφράγματος και την αύξηση της πίεσης στα κατώτερα πνευμονικά πεδία (54). Ο αριθμός των μη αεριζόμενων κυψελίδων αυξάνει και καθώς η ανταλλαγή αερίων λαμβάνει χώρα κυρίως στην βάση των πνευμόνων, έχει ως τελικό αποτέλεσμα την διαταραχή της σχέσης αερισμού-αιμάτωσης και την διαφυγή μη οξυγονομένου αίματος. Η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση προκαλεί επίσης μείωση της πνευμονικής ενδοτικότητας και αύξηση της πίεσης αιχμής στους αεραγωγούς. Αποτέλεσμα αυτών των μεταβολών είναι η αύξηση του νεκρού χώρου κατά την διάρκεια αερισμού με θετική πίεση. Αυτό οδηγεί σε αύξηση του αναπνεόμενου όγκου αέρα (55).

Η υπερκαπνία προκαλείται από την απορρόφηση CO₂ διαμέσου του περιτοναίου. Συγκεκριμένα, το διαφραγματικό τμήμα του περιτοναίου έχει μεσοκυττάρια ανοίγματα, τα στόματα, που είναι η κύρια οδός απορρόφησης ουσιών από την περιτοναϊκή κοιλότητα (56). Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι τα στόματα ανοίγουν και κλείνουν με την χαλάρωση και την σύσπαση του διαφράγματος, πράγμα που σημαίνει ότι η βατότητα τροποποιείται με τις αναπνευστικές κινήσεις (57). Τα στόματα παραμένουν ανοιχτά σε αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση, ο οποίος είναι ένας προσαρμοστικός μηχανισμός για την διευκόλυνση της απομάκρυνσης υγρών και αερίων από την περιτοναϊκή κοιλότητα (58).

Τα πρώτα κλινικά δεδομένα για τις επιδράσεις της απορρόφησης του CO₂ στην συστηματική κυκλοφορία προέρχονται από μελέτες σε νέες γυναίκες που υποβλήθηκαν σε διαγνωστική λαπαροσκόπηση (59). Η εισαγωγή πνευμοπεριτοναίου είχε ως αποτέλεσμα μία σημαντική αύξηση στην αρτηριακή συγκέντρωση του CO₂ και μία σημαντική μείωση στο αρτηριακό pH. Η υπερκαπνία και η αναπνευστική οξέωση οδήγησαν σε αντιρροπιστική αύξηση της αναπνευστικής συχνότητας και του αναπνεόμενου όγκου αέρα, ώστε να αποβληθεί η περίσσεια CO₂. Ο βαθμός της υπερκαπνίας εξαρτάται από το επίπεδο της ενδοκοιλιακής πίεσης, την διάρκεια του πνευμοπεριτοναίου και την θέση του ασθενούς κατά την διάρκεια της επέμβασης. Υψηλή ενδοκοιλιακή πίεση, μεγάλη διάρκεια επέμβασης και Trendelenburg θέση του ασθενούς έχουν σαν αποτέλεσμα μεγαλύτερα επίπεδα υπερκαπνίας (60).



Πρόσφατη πειραματική μελέτη σε επίμυες έδειξε ότι η παραγωγή ελευθέρων ριζών παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόκληση πνευμονικής βλάβης μετά από λαπαροσκοπικές επεμβάσεις (61).

Η ύπαρξη χρόνιας πνευμονικής νόσου μπορεί επίσης να επιβραδύνει την αποβολή CO₂ από τον οργανισμό. Στις πνευμονοπάθειες αποφρακτικού τύπου έχουμε αύξηση του νεκρού χώρου λόγω καταστροφής κυψελίδων και διαταραχή της σχέσης αερισμού – αιμάτωσης. Στις πνευμονοπάθειες περιοριστικού τύπου οι κυψελίδες αντικαθίστανται από ινώδη ιστό και μειώνεται η ικανότητα διάχυσης. Έτσι, η ανταλλαγή αερίων επιδεινώνεται και παρατηρείται διαφυγή μη οξυγονομένου αίματος. Πειραματική μελέτη (62) σε κύνες, που η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια εγκαταστάθηκε με εισπνοές πεπαΐνης, έδειξε ότι πνευμοπεριτόναιο της τάξης των 15 mm Hg οδήγησε σε μεγαλύτερου βαθμού υπερκαπνία σε σχέση με πειραματόζωα με φυσιολογική πνευμονική λειτουργία. Η ικανότητα αποβολής του CO₂ ήταν σημαντικά μειωμένη.

Οι ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, κατά την διάρκεια λαπαροσκοπικών επεμβάσεων έχουν αυξημένη πίεση στην πνευμονική αρτηρία, αυξημένη πίεση αεραγωγών και μικρότερη ικανότητα αποβολής CO₂ (63). Οι ασθενείς αυτοί συχνά έχουν πνευμονικές φυσσαλίδες και η αυξημένη πίεση των αεραγωγών μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική πτώση της καρδιακής παροχής καθώς και σε πνευμοθώρακα από την ρήξη των φυσσαλίδων.

Για την αποφυγή των παρενεργειών του πνευμοπεριτοναίου είναι απαραίτητη η συνεχής παρακολούθηση της αναπνευστικής λειτουργίας κατά την διάρκεια της επέμβασης. Ο μηχανικός αερισμός πρέπει να προσαρμοστεί κατάλληλα, ώστε να αντιροπήσει τις επιπτώσεις της αυξημένης ενδοκοιλιακής πίεσης και της συστηματικής απορρόφησης CO₂. Η εφαρμογή θετικής τελο-εκπνευστικής πίεσης σε ασθενείς με φυσιολογική αναπνευστική λειτουργία, φαίνεται να έχει ευεργετικά αποτελέσματα.

Στους ασθενείς με πνευμονοπάθεια περιοριστικού ή αποφρακτικού τύπου, η εφαρμογή θετικής τελοεκπνευστικής πίεσης έχει δώσει αντικρουόμενα αποτελέσματα. Για την επιτυχή αντιμετώπιση της κατηγορίας αυτής προτείνονται εκτέλεση της επέμβασης σε μικρό χρόνο και χαμηλή πίεση πνευμοπεριτοναίου. Σε ασθενείς με σοβαρή πνευμονική νόσο η χρήση γενικής αναισθησίας πρέπει να αποφεύγεται και υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν χρήση επισκληρίδιας (64) ή ενδοραχιαίας αναισθησίας (65) για την εκτέλεση λαπαροσκοπικών επεμβάσεων με καλά αποτελέσματα.



1.6.2. Πνευμοπεριτόναιο και καρδιακή λειτουργία

Οι επιπτώσεις του πνευμοπεριτοναίου στην καρδιακή λειτουργία απορρέουν από τις επιδράσεις της υπερκαπνίας και της αυξημένης ενδοκοιλιακής πίεσης. Η υπερκαπνία αυξάνει την συχνότητα των καρδιακών αρρυθμιών (66). Ήπια υπερκαπνία προκαλεί διέγερση του συμπαθητικού που οδηγεί σε ταχυκαρδία, περιφερική αγγειοσύσπαση, αύξηση της αρτηριακής πίεσης και της καρδιακής παροχής (67). Η σοβαρή υπερκαπνία έχει αρνητική ινότροπο δράση και μείωση της λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας (68).

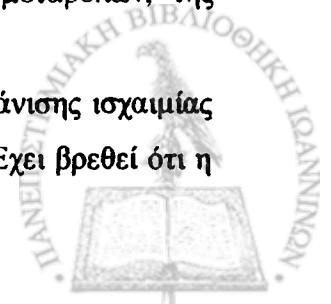
Η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση προκαλεί μείωση της φλεβικής επαναφοράς (προφορτίο), αύξηση της πίεσης πλήρωσης των καρδιακών κοιλοτήτων, αύξηση της αρτηριακής πίεσης και αύξηση των συστηματικών αγγειακών αντιστάσεων (μεταφορτίο). Η θέση του ασθενούς επίσης φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο. Η Trendelenburg θέση αυξάνει το προφορτίο, ενώ η αντι-Trendelenburg θέση αυξάνει το μεταφορτίο (69). Οι επιπτώσεις του πνευμοπεριτοναίου στο καρδιαγγειακό, στο νευροενδοκρινικό και στην νεφρική λειτουργία προκαλούν μεταβολές παρόμοιες μ' αυτές που παρατηρούνται σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια (70).

Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι σε φυσιολογική καρδιακή λειτουργία, οι αιμοδυναμικές επιπτώσεις του πνευμοπεριτοναίου υφίστανται κυρίως λόγω της υπερκαπνίας (71). Σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ή αναπνευστική νόσο, η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση παίζει επίσης σημαντικό ρόλο (72).

Κλινική μελέτη έδειξε ότι 2 στους 16 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή, χωρίς ιστορικό καρδιακής νόσου, παρουσίασαν ηλεκτροκαρδιογραφικές αλλοιώσεις (πτώση του ST) κατά την διάρκεια της επέμβασης (73).

Για την αποφυγή επιπλοκών από το καρδιαγγειακό κατά την διάρκεια λαπαροσκοπικών επεμβάσεων συστήνεται η κατάλληλη προεγχειρητική προετοιμασία και ο συνεχής διεγχειρητικός έλεγχος. Συγκεκριμένα, για ασθενείς χωρίς ιστορικό καρδιακής νόσου, η παρακολούθηση των ηλεκτροκαρδιογραφικών μεταβολών, της αρτηριακής πίεσης και της αποβολής ούρων θεωρούνται αρκετά.

Σε ασθενείς με ιστορικό καρδιακής νόσου, η πιθανότητα εμφάνισης ισχαιμίας των στεφανιαίων κατά την διάρκεια της επέμβασης είναι σημαντική. Έχει βρεθεί ότι η

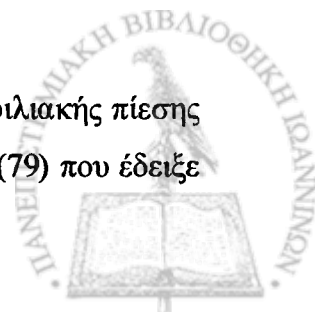


χορήγηση ενδοφλέβιων υγρών πριν την εισαγωγή της αναισθησίας μειώνει της επιπτώσεις του πνευμοπεριτοναίου στην καρδιακή λειτουργία (74). Στην ομάδα αυτή των ασθενών επιβάλλεται λεπτομερής παρακολούθηση της καρδιαγγειακής και της αναπνευστικής λειτουργίας και έγκαιρη αναγνώριση και διόρθωση των τυχόν διαταραχών. Συγκεκριμένα είναι χρήσιμη η μέτρηση της κεντρικής φλεβικής πίεσης, της πίεσης της πνευμονικής αρτηρίας και της καρδιακής παροχής (63). Η χρήση διουσοφάγειου υπερηχογραφήματος (75) δίνει χρήσιμες πληροφορίες για την πίεση πλήρωσης των καρδιακών κοιλοτήτων, τη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου και την αντίχνευση εμβόλων στην συστηματική κυκλοφορία.

Για την αποφυγή των επιπλοκών του πνευμοπεριτοναίου σε ασθενείς με αναπνευστική ή καρδιακή νόσο, δύο είναι οι προτεινόμενες λύσεις από την βιβλιογραφία. Η μία είναι η χρήση φαρμακευτικών σκευασμάτων που βελτιώνουν την καρδιακή παροχή μέσω αρτηριακής αγγειοδιαστολής και μείωσης των συστηματικών αντιστάσεων (70). Τέτοια σκευάσματα είναι οι αναστολείς μετατρεπτικού ενζύμου, οι αναστολείς α και β υποδοχέων (π.χ λαβεταλόλη) και τα νιτρώδη (75). Πριν όμως την χρησιμοποίηση αυτών των σκευασμάτων στην κλινική πράξη, είναι απαραίτητη περαιτέρω μελέτη για τις τυχόν αλληλεπιδράσεις τους με τα αναισθητικά φάρμακα. Η άλλη δυνατότητα είναι η χρήση συσκευών ανύψωσης του κοιλιακού τοιχώματος. Πειραματικές μελέτες (76) έδειξαν ότι η χρήση συσκευής ανύψωσης του κοιλιακού τοιχώματος για την εκτέλεση λαπαροσκοπικής κολεκτομής, προκάλεσε μικρότερη επιβάρυνση στην αναπνευστική και στην καρδιακή λειτουργία. Πρόσφατες κλινικές συγκριτικές τυχαιοποιημένες μελέτες (77;78) έδειξαν ότι η χρήση συσκευής ανύψωσης του κοιλιακού τοιχώματος για την εκτέλεση λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής, χωρίς την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου, επιβαρύνει σημαντικά λιγότερο την αναπνευστική και την καρδιακή λειτουργία, αυξάνοντας όμως σημαντικά τον διεγχειρητικό χρόνο. Οι συγγραφείς συμπεραίνουν ότι η χρήση συσκευής ανύψωσης του κοιλιακού τοιχώματος προσφέρει πλεονεκτήματα σε ασθενείς υψηλού κινδύνου, που πρέπει να χειρουργηθούν λαπαροσκοπικά.

1.7 Πνευμοπεριτόναιο και ενδοκράνια πίεση

Πειραματικές και κλινικές μελέτες έδειξαν πως η αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης προκαλεί αύξηση στην ενδοκράνια πίεση. Η πρώτη πειραματική μελέτη (79) που έδειξε



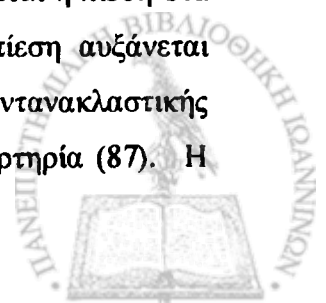
ότι η δημιουργία πνευμοπεριτοναίου προκαλεί σημαντική αύξηση στην ενδοκράνια πίεση δημοσιεύτηκε το 1993 . Στην μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε ενδοκοιλιακή πίεση της τάξης των 15 mm Hg. Επιπλέον μελετήθηκε η επίδραση του πνευμοπεριτοναίου σε πειραματόζωα με ήδη αυξημένη ενδοκράνια πίεση. Για τον σκοπό αυτό εισήχθη ένα μπαλόνι στον επισκληρίδιο χώρο που προκαλούσε αύξηση της ενδοκράνιας πίεσης. Παρατήρησαν πως η εισαγωγή πνευμοπεριτοναίου προκαλούσε περαιτέρω αύξηση της πίεσης. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν από άλλες πειραματικές μελέτες (80), όπου επιπλέον βρέθηκε ότι η θέση Trendelenburg αυξάνει περισσότερο την ενδοκράνια πίεση.

Μία κλινική μελέτη (81) (παρουσίαση ασθενούς) εξέτασε τις μεταβολές στην ενδοκράνια πίεση σε ασθενή με γλοιώμα εγκεφάλου, που υποβλήθηκε σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή. Τα ευρήματα ήταν ανάλογα με αυτά των πειραματικών μελετών: η εισαγωγή πνευμοπεριτοναίου προκάλεσε αύξηση της ενδοκράνιας πίεσης.

Η χρήση άλλων αερίων (οξείδιο του αζώτου, ήλιο) προκάλεσαν μικρότερη, αλλά σημαντική αύξηση στην ενδοκράνια πίεση (82). Η δε χρήση της συσκευής ανύψωσης του κοιλιακού τοιχώματος δεν προκάλεσε σημαντική αύξηση στην ενδοκράνια πίεση. Από τις μελέτες αυτές συνάγεται ότι η αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης είναι ο καθοριστικός παράγοντας για την αύξηση της ενδοκράνιας πίεσης.

Η αυξημένη ενδοκράνια πίεση με την σειρά της προκαλεί συστηματικές αιμοδυναμικές μεταβολές και, συγκεκριμένα, αύξηση της κεντρικής φλεβικής και συστηματικής αρτηριακής πίεσης, βραδυκαρδία και αυξημένες περιφερικές αντιστάσεις, με τελικό αποτέλεσμα μείωση της αιματικής ροής στην συστηματική κυκλοφορία (83).

Ο προτεινόμενος μηχανισμός για τις ανωτέρω μεταβολές είναι ο ακόλουθος: η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση ανυψώνει το διάφραγμα με αποτέλεσμα να συμπιέζεται το διαφραγματικό τμήμα της κάτω κοίλης (84), να αυξάνεται η ενδοθωρακική πίεση και να συμπιέζεται ο δεξιός κόλπος (85). Αυτές οι μεταβολές οδηγούν σε μείωση της φλεβικής ροής και σε αύξηση της κεντρικής φλεβικής πίεσης (ΚΦΠ). Η αυξημένη ΚΦΠ αυξάνει την αντίσταση στην φλεβική παροχέτευση του οσφυϊκού πλέγματος καθώς και στις μεγάλες φλέβες του ΚΝΣ. Με αυτόν τον τρόπο αυξάνεται η πίεση στα ενδοκράνια αγγεία και στον οβελιαίο κόλπο (86). Η ενδοκράνια πίεση αυξάνεται περαιτέρω λόγω της απευθείας επίδρασης της υπερκαπνίας, της αντανάκλαστικής αγγειοδιαστολής και της αύξησης της ροής στην μέση εγκεφαλική αρτηρία (87). Η



αύξηση της ενδοκράνιας πίεσης ερεθίζει τους νευρώνες C₁ του προμήκη μυελού, οι οποίοι με την σειρά τους απελευθερώνουν κατεχολαμίνες και βασοπρεσσίνη. Η έκκριση αυτών των ορμονών προκαλεί συστηματικές αιμοδυναμικές μεταβολές και σπλαχνική ισχαιμία (σχήμα 3).

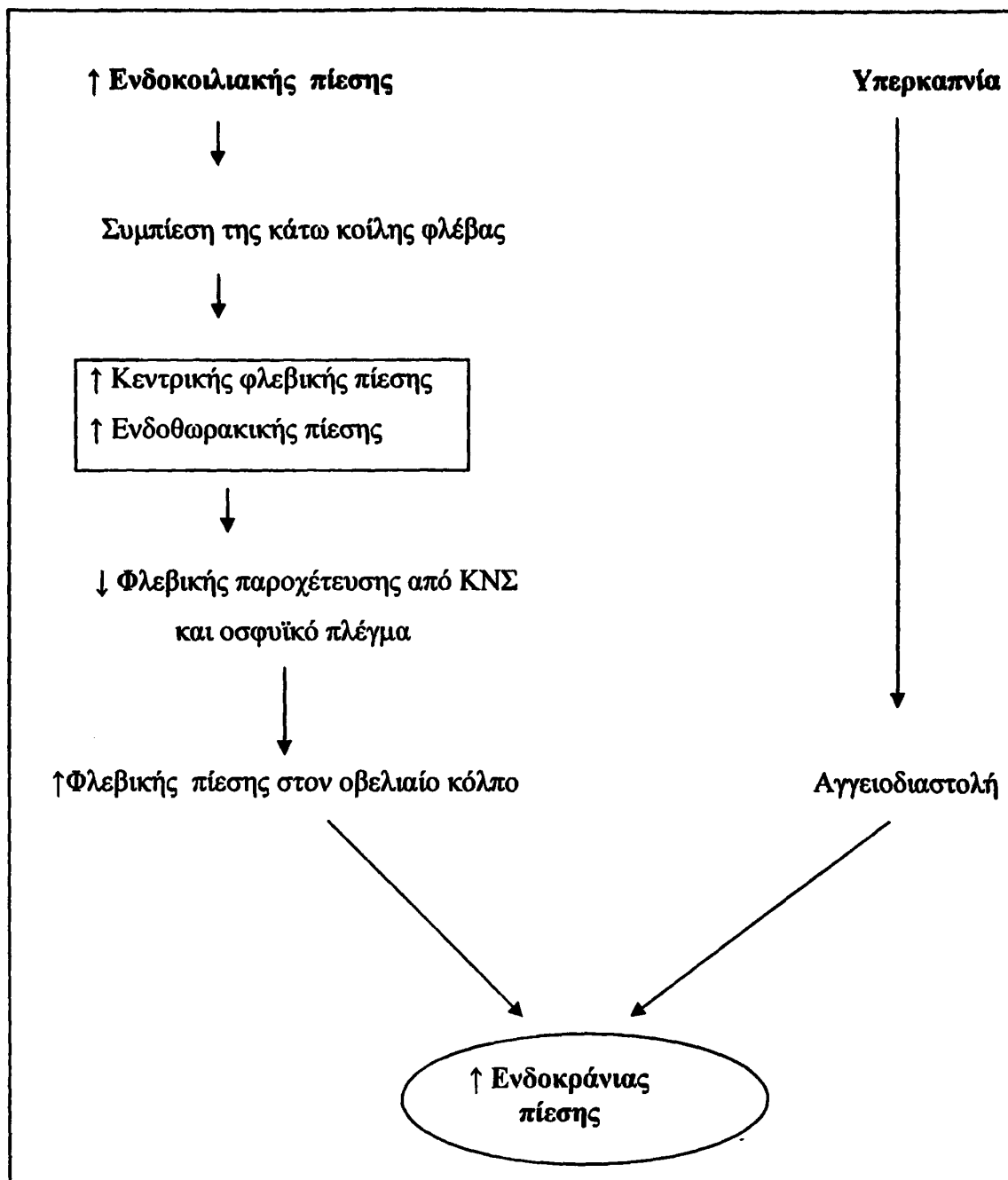
Παρόλο που η διαγνωστική λαπαροσκόπηση προτείνεται ως εργαλείο για την διερεύνηση του πολυτραυματία (88), τα πρόσφατα πειραματικά και κλινικά δεδομένα δείχνουν ότι δεν είναι άμοιρη κινδύνων. Είναι ίσως καλύτερα να μην χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις που συνυπάρχει κρανιοεγκεφαλική κάκωση και αυξημένη ενδοκράνια πίεση (89). Σαν εναλλακτική λύση προτείνεται η χρήση συσκευών ανύψωσης του κοιλιακού τοιχώματος.

1.8 Πνευμοπεριτόναιο και ανοσοποιητικό σύστημα

Πειραματικές και κλινικές μελέτες έδειξαν ότι η τοπική ανοσολογική απόκριση της περιτοναϊκής κοιλότητας επηρεάζεται σημαντικά από την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου. Ο ενδοπεριτοναϊκός αμυντικός μηχανισμός είναι αποτέλεσμα ενός μηχανικού συστήματος κάθαρσης (διαφραγματικά στόματα, πολυμορφοπύρηνα, μακροφάγα) και ενός ανοσολογικού όπου συμμετέχουν T και B λεμφοκύτταρα. Αν και ο ακριβής μηχανισμός της τοπικής ανοσοκαταστολής δεν είναι επακριβώς γνωστός, υπάρχουν πειραματικές μελέτες (90) που δείχνουν ότι κυρίως το CO₂ είναι υπεύθυνο για την καταστολή της κυτταρικής ανοσίας. Αυτή η καταστολή της κυτταρικής ανοσίας σε τοπικό επίπεδο ίσως να επιβαρύνει την μετεγχειρητική πορεία ασθενών με περιτονίτιδα ή σηψαιμία, που αντιμετωπίζονται λαπαροσκοπικά (91).

Η λαπαροσκοπική χειρουργική από την άλλη πλευρά προκαλεί μικρότερες διαταραχές στην συστηματική ανοσία. Πειραματικές και κλινικές μελέτες έδειξαν ότι η επιβραδυνόμενου τύπου υπερευαισθησία διατηρείται καλύτερα μετά από λαπαροσκοπικές επεμβάσεις (92).





Σχήμα 3: Παθοφυσιολογία αύξησης της ενδοκράνιας πίεσης

B. ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS

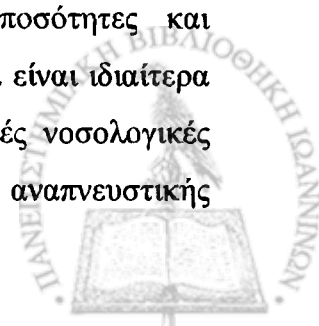
2.1 Εισαγωγή

Οι ελεύθερες ρίζες και τα αντιοξειδωτικά ήταν γνωστά στον χώρο της χημείας για πολλές δεκαετίες κυρίως λόγω της σημασίας τους στις επιδράσεις της ακτινοβολίας (93), στις βιομηχανίες πλαστικών και χρωμάτων καθώς και στη διατήρηση των τροφών. Ο ρόλος τους όμως στην Βιολογία και την Ιατρική άρχισε να γίνεται κατανοητός και να μελετάται εντατικά τις τελευταίες 3-4 δεκαετίες.

Το 1954 ο Comptoner έκανε την πρώτη αναφορά για την ύπαρξη ελευθέρων ριζών σ' ένα βιολογικό σύστημα (94), ενώ το 1956 η ομάδα του Gilbert (95) συσχέτισε τα τοξικά αποτελέσματα αυξημένων επιπέδων οξυγόνου στους αερόβιους οργανισμούς με τα αποτελέσματα της ιονίζουσας ακτινοβολίας. Στην μελέτη αυτή προτάθηκε ότι η τοξικότητα του οξυγόνου οφείλεται στην παραγωγή ελευθέρων ριζών. Χρειάστηκε όμως να περάσουν αρκετά χρόνια και να γίνει η ανακάλυψη του ρόλου της δισμουτάσης του σουπεροξειδίου, το 1969 από τους Mc Cord και Fridovich (96;97), ώστε να αρχίσει να γίνεται αντιληπτός ο σημαντικός ρόλος των ελευθέρων ριζών στα βιολογικά συστήματα.

Η ανάπτυξη της Βιοχημείας ως ξεχωριστής επιστήμης από την Χημεία, η ανάπτυξη χρωματογραφικών και ηλεκτροφορητικών τεχνικών για την μελέτη των κυτταρικών συστατικών, η ανάπτυξη ειδικών οργάνων (ηλεκτρονικοί παραμαγνητικοί συντονιστές, EPR ή ESR) για την άμεση ανίχνευση των ελευθέρων ριζών και η αλματώδης ανάπτυξη της Μοριακής Βιολογίας την τελευταία 20ετία, έπαιξαν καταλυτικό ρόλο στην κατανόηση των μοριακών μηχανισμών με τους οποίους οι ελεύθερες ρίζες εμπλέκονται στις βασικές κυτταρικές λειτουργίες.

Τα τελευταία χρόνια έγινε κατανοητό ότι ελεύθερες ρίζες και άλλες δραστικές μορφές οξυγόνου παράγονται συνεχώς σε μικρές ποσότητες στο πλαίσιο των χημικών αντιδράσεων για την παραγωγή ενέργειας και τη διαφύλαξη της ομοιοστασίας του οργανισμού. Σε φυσιολογικές καταστάσεις φαίνεται να παίζουν ρόλο διαβιβαστή μηνύματος (signal transduction) σε κυτταρικό επίπεδο καθώς και στην αντίδραση σε εισβολείς (διεργασία φλεγμονής). Όταν όμως παραχθούν σε μεγάλες ποσότητες και υπερκεράσουν τα αμυντικά συστήματα του οργανισμού τότε μπορεί να είναι ιδιαίτερα τοξικές. Αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών έχει βρεθεί σε πολλές νοσολογικές καταστάσεις όπως σύνδρομο ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, σύνδρομο αναπνευστικής



δυσχέρειας ενηλίκων, σηπτικό shock, αυτοάνοσα νοσήματα, νευροεκφυλιστικές νόσοι, ενώ φαίνεται να εμπλέκονται στην παθογένεια του καρκίνου και της γήρανσης.

Στην συνέχεια του κεφαλαίου θα δοθεί ο ορισμός των ελευθέρων ριζών, θα παρουσιαστούν οι σημαντικότερες από αυτές, οι συνέπειες από την υπερπαραγωγή τους και οι αμυντικοί μηχανισμοί του οργανισμού για την διατήρηση της ομοιοστασίας.

2.2 Ορισμός

Ελεύθερη ρίζα είναι κάθε άτομο ή μόριο με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα. Ασύζευκτο ηλεκτρόνιο είναι αυτό που καταλαμβάνει μόνο του ένα ατομικό ή μοριακό τροχιακό. Οι ελεύθερες ρίζες συμβολίζονται με μια τελεία πάνω δεξιά ή αριστερά στον χημικό τους τύπο (98).

Οι ελεύθερες ρίζες συνήθως είναι ασταθείς και πολύ δραστικές λόγω της τάσης του ασύζευκτου ηλεκτρονίου για σύζευξη. Σχηματίζονται από αντιδράσεις οξειδοαναγωγής, όπου οξείδωση είναι η απομάκρυνση ηλεκτρονίων από ένα άτομο ή μόριο και αναγωγή η πρόσληψη ηλεκτρονίων. Επίσης, ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκύψουν από διάσπαση ομοιοπολικών δεσμών, όπου τα ηλεκτρόνια που αποτελούσαν πριν τον δεσμό μοιράζονται από ένα σε κάθε ομάδα.

Το οξυγόνο είναι το κατ'εξοχήν ζωτικό στοιχείο για τους αερόβιους οργανισμούς. Η αφθονία του στα βιολογικά συστήματα σε συνδυασμό με την ικανότητά του να προσλαμβάνει μονά ηλεκτρόνια, το καθιστούν τον σημαντικότερο παράγοντα δημιουργίας ελευθέρων ριζών στις αερόβιες μορφές ζωής (99).

Οι ελεύθερες ρίζες που περιέχουν οξυγόνο ονομάζονται ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Υπάρχουν όμως και ορισμένες ενώσεις του οξυγόνου που δεν έχουν ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική τους στιβάδα, μπορούν όμως να συμμετέχουν σε τοξικές για τα κύτταρα αντιδράσεις, ή στην δημιουργία ελευθέρων ριζών. Οι ενώσεις αυτές, μαζί με τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, ονομάζονται δραστικές μορφές οξυγόνου (ΔΜΟ).

Μία άλλη σημαντική κατηγορία δραστικών ουσιών είναι αυτές που περιέχουν άζωτο και ονομάζονται δραστικές μορφές αζώτου (ΔΜΑ) (100).



2.3 Παραγωγή ελευθέρων ριζών και άλλων δραστικών μορφών οξυγόνου

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να σχηματιστούν από διαφορετικές βιοχημικές οδούς μέσα στον οργανισμό (101) (Σχήμα 1). Είναι συνέπεια αντιδράσεων οξειδοαναγωγής. Αυτές μπορεί να είναι ενζυμικές ή μη ενζυμικές, με παρουσία όμως κάποιου μετάλλου μετάπτωσης. Οι πιο σημαντικές πηγές είναι η αναγωγή του μοριακού οξυγόνου κατά την αερόβια αναπνοή στα μιτοχόνδρια με παραγωγή ανιόντων του σουπεροξειδίου, η οξείδωση των κατεχολαμινών, ο μεταβολισμός του αραχιδονικού οξέος, η ενεργοποίηση των πολυμορφοπυρήνων με παραγωγή υποχλωριώδους οξέος, και το ενδοθήλιο των αγγείων με την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου.

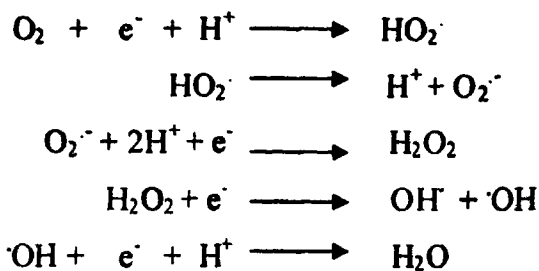
Μπορεί να παραχθούν ως απάντηση σε εξωγενή ερεθίσματα όπως: ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, φάρμακα, χημικά καρκινογόνα. Παράγονται επίσης σε συνθήκες ισχαιμίας – επαναιμάτωσης (έμφραγμα μυοκαρδίου, μεταμοσχεύσεις οργάνων, ανάταξη υποογκαιμικού shock), χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα, τραύμα.

Σε πολλές περιπτώσεις η παραγωγή ελευθέρων ριζών αποτελεί απαραίτητο στοιχείο φυσιολογικών διεργασιών. Εξυπηρετούν ανάγκες του κυττάρου, όπως την φαγοκυττάρωση, την διαφοροποίηση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την μεταγωγή σημάτων (102;103).

Τις περισσότερες φορές, οι ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται φυσιολογικά δεν είναι δυνατόν να διαχυθούν ελεύθερα, αλλά παραμένουν δεσμευσμένες στο σημείο σχηματισμού τους και αντιδρούν εξειδικευμένα για την παραγωγή συγκεκριμένου προϊόντος.



α). Αναγωγή μοριακού οξυγόνου



HO_2^\cdot : υδροϋπεροξειδική ρίζα

$\text{O}_2^{\cdot-}$: ανιόν σουπεροξειδίου

H_2O_2 : υπεροξείδιο του υδρογόνου

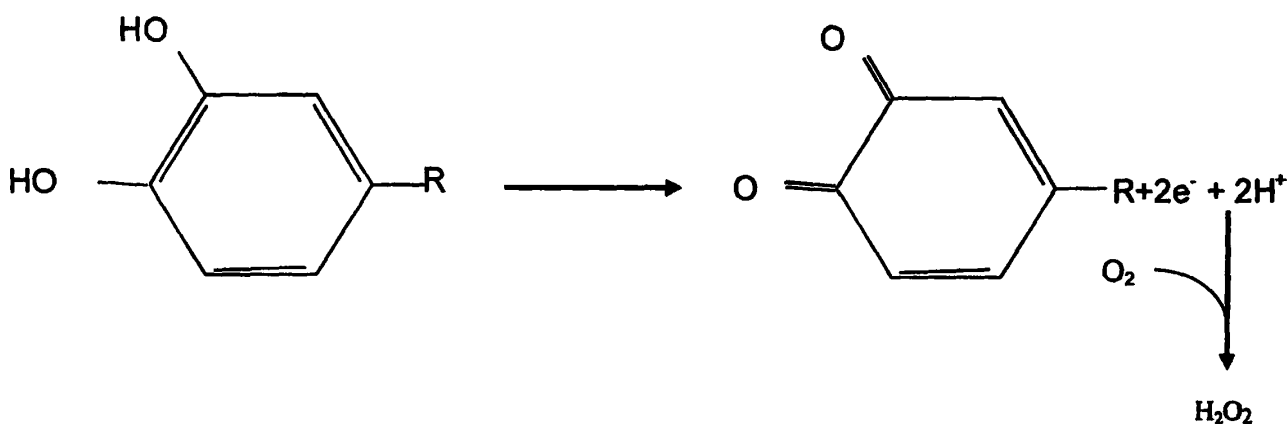
$\cdot\text{OH}$: ρίζα υδροξυλίου

β). Παραγωγή υποχλωριώδους οξέος από υπεροξείδιο του υδρογόνου



HOCl : υποχλωριώδες οξύ

γ). Οξείδωση κατεχολαμινών



δ). Ενεργοποίηση της οδού του αραχιδονικού οξέος

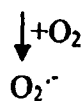
Αραχιδονικό οξύ



Προσταγλανδίνη G2



Προσταγλανδίνη $\text{H}_2 + e^-$

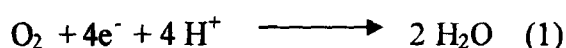


Σχήμα 1: Παραδείγματα παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου από διάφορες βιοχημικές οδούς στον οργανισμό



2.4 Δραστικές μορφές οξυγόνου

Υπό φυσιολογικές συνθήκες το 98% του μοριακού οξυγόνου στα βιολογικά συστήματα ανάγεται σε νερό με την βοήθεια του ενζύμου κυτοχρωμική οξειδάση που είναι το τελευταίο ένζυμο της αναπνευστικής αλυσίδας στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Το ενζυμικό σύμπλοκο της κυτοχρωμικής οξειδάσης επιτρέπει την ταυτόχρονη μεταφορά τεσσάρων ηλεκτρονίων στο μοριακό οξυγόνο, διευκολύνοντας έτσι την παραγωγή ενέργειας υπό μορφή ATP (διαδικασία οξειδωτικής φωσφορυλίωσης):

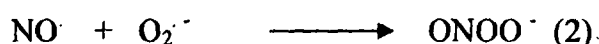


Ένα μικρό όμως ποσοστό μοριακού οξυγόνου (περίπου 2%) ανάγεται με διαδοχικά μονά ηλεκτρόνια σχηματίζοντας ενδιάμεσες μορφές αναγωγής οξυγόνου, που ονομάζονται δραστικές μορφές οξυγόνου οι οποίες μπορεί να έχουν τοξικά αποτελέσματα για το κύτταρο και τον οργανισμό (Πίνακας 1).

Οι πιο σημαντικές ΔΜΟ είναι το ανιόν του σουπεροξειδίου (O_2^-), το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), η ρίζα υδροξυλίου (OH) και το υποχλωριώδες οξύ (HOCl). Στην συνέχεια θα αναφερθούμε αναλυτικά στις ενώσεις αυτές.

2.4.1 Ανιόν του σουπεροξειδίου (O_2^-)

Το ανιόν του σουπεροξειδίου (O_2^-), είναι προϊόν αναγωγής του οξυγόνου με ένα ηλεκτρόνιο. Δεν είναι ιδιαίτερα δραστικό σε υδατικά διαλύματα. Αντιδρά όμως εύκολα με άλλες ελεύθερες ρίζες, όπως το μονοξειδίο του αζώτου (NO) και δίνει γέννηση στο περοξυνιτρώδες (ONOO^-), που είναι ισχυρό οξειδωτικό μέσο:



Το περοξυνιτρώδες μπορεί να προκαλέσει δυσλειτουργία στον ενεργειακό μεταβολισμό, αδρανοποιώντας ένζυμα όπως η ακονιτάση των μιτοχονδρίων.

Στα κύτταρα το O_2^- μετατρέπεται γρήγορα σε H_2O_2 μέσω της αντίδρασης που καταλύεται από την δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD):



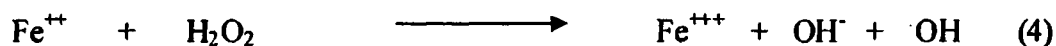


Σε χαμηλό pH το O_2^- πρωτονιώνεται έτσι ώστε να σχηματίσει την υδροϋπεροξειδική ρίζα (HO_2^\cdot). Η ρίζα αυτή είναι ισχυρός οξειδωτικός παράγοντας και μπορεί να προκαλέσει λιπιδιακή υπεροξείδωση. Σε φυσιολογικό pH, λιγότερο από 1% του O_2^- είναι σε πρωτονιωμένη μορφή.

2.4.2 Υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2)

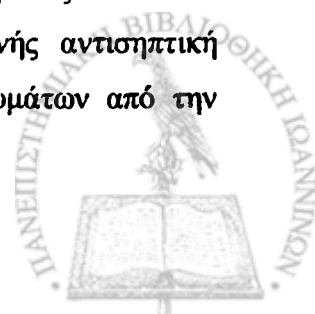
Προέρχεται κυρίως από τον ανιόν του σουπεροξειδίου μέσω της αντίδρασης (3) που καταλύεται από το ένζυμο δισμουτάση του σουπεροξειδίου. Επίσης, αρκετά ένζυμα όπως η μονοαμινοξειδάση (MAO) της εξωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων, η οξειδάση του ουρικού, η οξειδάση της ξανθίνης καθώς και στοιχεία της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων, παράγουν H_2O_2 με απευθείας μεταφορά δύο ηλεκτρονίων στο O_2 .

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου είναι ένας οξειδωτικός παράγοντας, αλλά όχι ιδιαίτερα δραστήσιμος. Λόγω του ότι δεν έχει ηλεκτρικό φορτίο, μπορεί εύκολα να διαχέεται μέσω των κυτταρικών μεμβρανών, μία ιδιότητα που είναι σημαντική για την φυσιολογική του δράση. Η κύρια σημασία του είναι ότι μπορεί να είναι πηγή για την παραγωγή της ρίζας του υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$), παρουσία μετάλλων μετάπτωσης (αντίδραση Fenton):



Τα αντιοξειδωτικά συστήματα που είναι υπεύθυνα για την διατήρηση του H_2O_2 σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι η καταλάση, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (104) και οι περοξυρεδοξίνες (105).

Παρόλη την φτωχή του δραστηριότητα μπορεί να είναι κυτταροτοξικό και σε υψηλές συγκεντρώσεις χρησιμοποιείται ως αντισηπτικό. Η ασθενής αντισηπτική ιδιότητα του μελιού που χρησιμοποιούνταν για την θεραπεία τραυμάτων από την



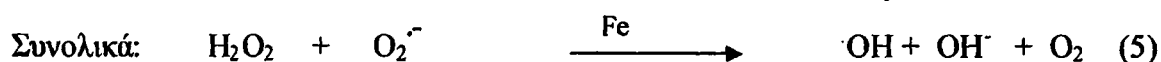
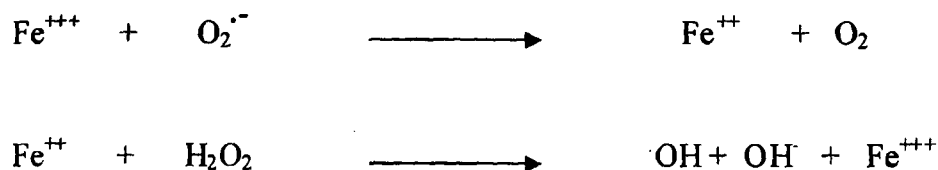
αρχαιότητα, οφείλεται κυρίως στην παραγωγή H_2O_2 από ένζυμα που βρίσκονται στο μέλι (106).

Σχετικά πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι το H_2O_2 μπορεί να παράγεται ενδογενώς σε ορισμένες κυτταρικές σειρές σαν απάντηση στην ενεργοποίηση κυτταροκινών ή παραγόντων ανάπτυξης (growth factors) (107;108). Αυτό το H_2O_2 δρα ως ενδιάμεσος διαβιβαστής για την ενεργοποίηση πρωτεϊνικών κινασών που οδηγούν στην έκφραση γονιδίων και πυροδοτούν την διεργασία της φλεγμονής ή ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο.

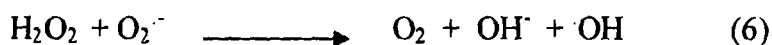
2.4.3 Ρίζα υδροξυλίου ($\cdot OH$)

Η ρίζα υδροξυλίου είναι εξαιρετικά δραστική και αντιδρά με τα περισσότερα βιομόρια. Έχει πολύ μικρό χρόνο ημίσειας ζωής και δε διαχέεται σε μεγάλη απόσταση. Είναι όμως ικανή να προξενήσει μεγάλη καταστροφή σε μικρή ακτίνα από τον τόπο παραγωγής της (109).

Είναι συνήθως προϊόν της αντίδρασης Fenton(110) (αντίδραση 4) και μπορεί να ανακυκλώνεται μέσω της αντίδρασης του ανιόντος του σουπεροξειδίου με τον τρισθενή σίδηρο (επιτάχυνση της αντίδρασης Fenton λόγω της παρουσίας ανιόντος του σουπεροξειδίου) (αντίδραση 5):



Είχε προταθεί ότι η ρίζα υδροξυλίου θα μπορούσε να σχηματιστεί και μέσω της αντίδρασης Haber-Weiss(111) :



Αναλυτικές όμως μελέτες έδειξαν ότι αυτή η αντίδραση δε λαμβάνει χώρα υπό φυσιολογικές συνθήκες in vivo (112).



2.4.4 Υποχλωριώδες οξύ (HOCl)

Παράγεται σε φλεγμονώδεις συνθήκες και σε καταστάσεις ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, μέσω της παρακάτω αντίδρασης που καταλύεται από το ένζυμο μυελοπεροξειδάση (ΜΠΟ):



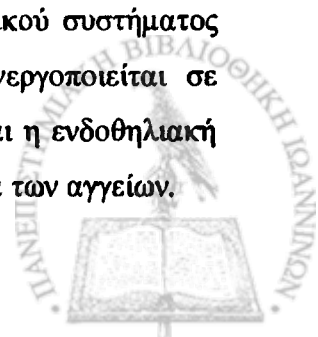
Το ένζυμο ΜΠΟ εκλύεται από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα του αίματος (113). Τα κύτταρα αυτά χρησιμοποιούν το HOCl για την εξόντωση ξένων μικροοργανισμών, όπως για παράδειγμα βακτηριδίων που έχουν εισέλθει με κάποιο τρόπο στον οργανισμό. Όπως όμως θα δούμε το HOCl ευθύνεται για την ιστική βλάβη που προκαλείται κατά την όψιμη φάση της επαναιμάτωσης. Είναι ιδιαίτερα δραστικό μόριο και τοξικό για τα βιομόρια. Η τοξικότητά του είναι άμεση δια της οξειδώσεως πρωτεϊνών, αλλά και έμμεση μέσω του σχηματισμού χλωραμινών. Έχει επίσης την ικανότητα να οξειδώνει και να απενεργοποιεί την α₁-αντιθρυψίνη του πλάσματος, αφήνοντας έτσι να δράσουν ελεύθερα οι αντίστοιχες πρωτεάσες (114).

2.5 Δραστικές μορφές αζώτου

Το μονοξείδιο (NO) και το διοξείδιο του αζώτου (NO₂) έχουν ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα και ως εκ τούτου είναι ελεύθερες ρίζες ενώ τα οξέα NO₃⁻, NO₂⁻ και N₂O δεν είναι.

Το NO είναι ένα άχρωμο αέριο, σχετικά διαλυτό στο νερό και περισσότερο στους οργανικούς διαλύτες. Μπορεί εύκολα να μετακινείται μέσα στα κύτταρα, αλλά και μεταξύ των κυττάρων. Στους ζώντες οργανισμούς σχηματίζεται από το αμινοξύ L-αργινίνη με μία αντίδραση που καταλύεται από τις συνθάσες του μονοξειδίου του αζώτου. Οι συνθάσες του μονοξειδίου του αζώτου μετατρέπουν την L-αργινίνη σε NO και ένα άλλο αμινοξύ την L-κιτρουλλίνη.

Υπάρχουν 3 τύποι συνθάσης του NO : η συνθάση του νευρικού συστήματος (nNOS, τύπος 1), ο επαγόμενος τύπος (iNOS, τύπος 2), που ενεργοποιείται σε καταστάσεις φλεγμονής ή βλάβης από ισχαιμία-επανακυκλοφορία, και η ενδοθηλιακή συνθάση (eNOS, τύπος 3), που παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων.



Πολλές από τις βιολογικές δράσεις του NO λαμβάνουν χώρα μέσω του συστήματος της γουανυλικής κυκλάσης (cGMP). Το NO είναι ο πιο γνωστός αγγειοδιασταλτικός παράγοντας και παλαιότερα ήταν γνωστός ως παράγοντας χάλασης του ενδοθηλίου (endothelial derivative relaxing factor, EDRF). Έχει πολλές βιολογικές ιδιότητες, όπως χάλαση του τόνου των αγγείων, αναστολή της συγκόλλησης των αιμοπεταλίων, της χημειοταξίας των ουδετερόφιλων και δράση ως διαβιβαστής μηνύματος (115;116).

Σε καταστάσεις φλεγμονής ο επαγόμενος τύπος (iNOS) παράγει αυξημένες ποσότητες NO που ανάλογα με το είδος του ιστού και τις συνθήκες που επικρατούν μπορεί να έχει κυτταροτοξικά ή προστατευτικά αποτελέσματα (117).

Η ταυτόχρονη παραγωγή NO και O_2^- οδηγεί στον σχηματισμό του περοξυνιτρώδους (ONOO⁻), που είναι ιδιαίτερα τοξικό (118) (αντίδραση 2).



Το ONOO⁻ μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο DNA, στα λιπίδια και στα μιτοχονδριακά ένζυμα (119).



ΟΥΣΙΑ	ΧΗΜΙΚΟ ΣΥΜΒΟΛΟ	ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ
Ανιόν του σουπεροξειδίου	O_2^-	Σχετικά καλό αναγωγικό, ασθενές οξειδωτικό
Υδροξυλική ρίζα	$\cdot OH$	Πολύ δραστικό σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής. Μικρή δυνατότητα διάχυσης.
Υδροπεροξειδική ρίζα	HO_2^-	Πιο ισχυρό οξειδωτικό και πιο υδρόφοβο από την ρίζα του ανιόντος του σουπεροξειδίου. Μπορεί να προξενήσει υπεροξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών
Ρίζα υπεροξειδίου	$ROO\cdot$	Μικρότερη οξειδωτική ικανότητα σε σχέση με την $\cdot OH$. Μεγαλύτερη δυνατότητα διάχυσης
Ρίζα αλκοξειδίου	$RO\cdot$	Ενδιάμεσης δραστικότητας οξειδωτικό
Υπεροξείδιο του υδρογόνου	H_2O_2	Ασθενές οξειδωτικό, ιδιαίτερα ικανό να διαπερνά τις κυτταρικές μεμβράνες
Υποχλωριώδες οξύ	$HOCl$	Ισχυρό οξειδωτικό
Μονήρες οξυγόνο	1O_2	Ισχυρό οξειδωτικό
Μοριακό οξυγόνο	O_2	Ασθενές οξειδωτικό

Πίνακας 1: Χαρακτηριστικά των κυριότερων δραστικών μορφών οξυγόνου.



2.6 Οξειδωτική πίεση (stress)

2.6.1 Ορισμός

Στους υγιείς αερόβιους οργανισμούς η παραγωγή ΔΜΟ και ΔΜΑ αντιρροπίζεται από το αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού. Όταν όμως υπάρχει δυσαρμονία μεταξύ της παραγωγής ΔΜΟ/ΔΜΑ και των αντιοξειδωτικών αμυντικών συστημάτων του οργανισμού, τότε έχουμε συνθήκες οξειδωτικού stress.

Αν θέλουμε να δώσουμε έναν ορισμό μπορούμε να πούμε πως οξειδωτική πίεση (stress) είναι η διαταραχή στην ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών – αντιοξειδωτικών παραγόντων, με επικράτηση των πρώτων, που οδηγεί τελικά σε κυτταρική βλάβη (120)(σχήμα 3).

Οξειδωτικός παράγοντας είναι η ουσία που μπορεί να προκαλέσει οξείδωση και να αφαιρέσει ηλεκτρόνια από κάποιο άλλο μόριο, ενώ αντιοξειδωτικός παράγοντας είναι η ουσία που έχει την τάση να δίνει ηλεκτρόνια προς έναν οξειδωτικό μόριο με συνέπεια την προφύλαξη άλλων μορίων που θα ήταν πιθανοί στόχοι.

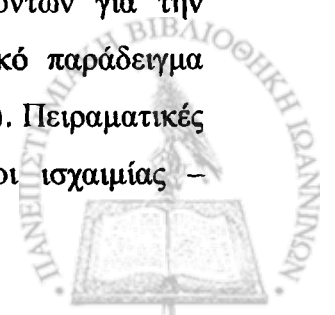
Το οξειδωτικό stress μπορεί να προέλθει από μειωμένη παραγωγή ενδογενών αντιοξειδωτικών (π.χ μεταλλάξεις) ή από ελλείψεις στην διαιτητική πρόσληψη αντιοξειδωτικών (π.χ Βιταμίνη C και E). Συνήθως όμως προέρχεται από την αυξημένη παραγωγή ΔΜΟ/ΔΜΑ, όπως σε καταστάσεις ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, σε χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις και σε παρουσία τοξινών που μεταβολίζονται για να παράγουν ΔΜΟ/ΔΜΑ.

2.6.2 Συνέπειες οξειδωτικού stress

Το οξειδωτικό stress μπορεί να οδηγήσει σε προσαρμογή του οργανισμού ή σε κυτταρική βλάβη.

α) Προσαρμογή

Τα κύτταρα έχουν την ικανότητα να ανέχονται ήπιο οξειδωτικό stress που συνήθως οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή αντιοξειδωτικών παραγόντων για την διατήρηση του ισοζυγίου οξειδωτικών / αντιοξειδωτικών. Ένα τυπικό παράδειγμα προσαρμογής είναι η ισχαιμική προετοιμασία (ischemic preconditioning). Πειραματικές και κλινικές μελέτες έδειξαν ότι επανειλημμένες βραχείες περιόδους ισχαιμίας –



επαναιμάτωσης σε όργανα όπως η καρδιά (121) και το ήπαρ (122), τα προστάτευαν από μετέπειτα παρατεταμένες περιόδους ισχαιμίας. Οι μηχανισμοί της προσαρμογής συνήθως περιλαμβάνουν αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων που κυρίως έχουν ως αποτέλεσμα αύξηση στην παραγωγή αντιοξειδωτικών παραγόντων (123). Πρέπει να έχουμε όμως υπόψη πως η προσαρμογή στο οξειδωτικό stress δεν οδηγεί πάντα σε αυξημένη παραγωγή αντιοξειδωτικών (124).

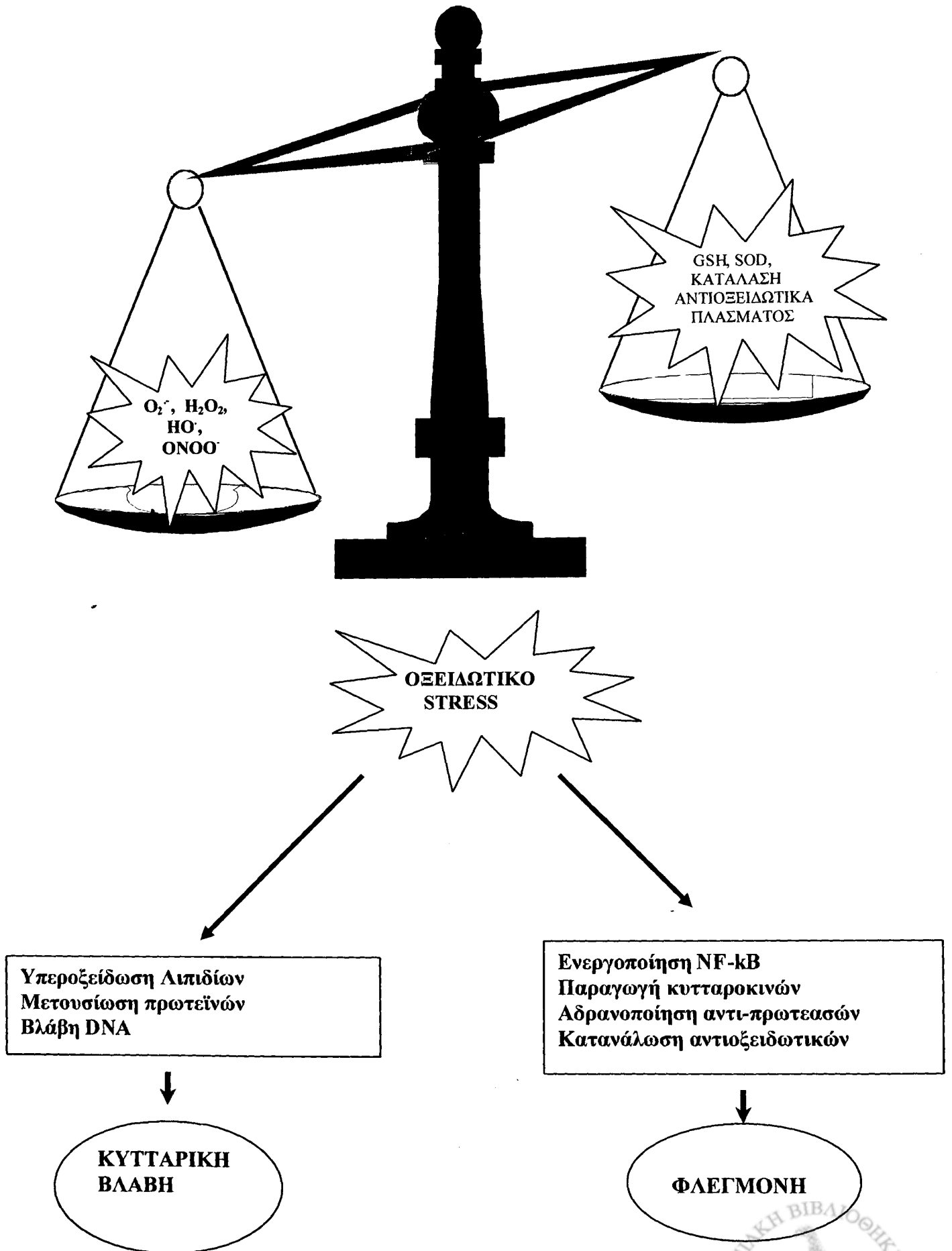
β). Κυτταρική βλάβη

Ως κυτταρική βλάβη ορίζεται το αποτέλεσμα χημικών ή φυσικών ερεθισμάτων, τα οποία προσωρινά ή οριστικά μεταβάλλουν την ομοιόσταση του κυττάρου (125). Το οξειδωτικό stress προκαλεί καταστροφή σ' όλους τους τύπους των βιομορίων, όπως στο DNA, στις πρωτεΐνες και στα λίπιδια (σχήμα 2). Δεν είναι πάντα ξεκάθαρο ποιο από τα βιομόρια θίγεται πρώτο ή ποιο παθαίνει τις περισσότερες βλάβες. Ο πρωτογενής στόχος σε συνθήκες οξειδωτικού stress ποικίλλει ανάλογα με το είδος του κυττάρου, τον τύπο και την σοβαρότητα της οξειδωτικής πίεσης.

Η κυτταρική βλάβη μπορεί να είναι αναστρέψιμη. Στην περίπτωση αυτή τα κύτταρα εισέρχονται σε μία σύντομη ή παρατεταμένη αλλαγή της κατάστασής τους που δεν οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο. Μπορεί όμως η αναστρέψιμη κατάσταση να είναι παροδική και τελικά να οδηγήσει σε μία μη αναστρέψιμη βλάβη (κυτταρικό θάνατο). Συνήθως κυτταρικός θάνατος προκαλείται από σοβαρής βαρύτητας οξειδωτικό stress. Ο κυτταρικός θάνατος συμβαίνει μέσω δύο μηχανισμών: της νέκρωσης και της απόπτωσης. Μερικές φορές όμως, ο θάνατος μπορεί να έχει χαρακτηριστικά και από τις δύο παραπάνω καταστάσεις.

Η νέκρωση χαρακτηρίζεται από οίδημα και λύση του κυττάρου. Πιο συγκεκριμένα τα μιτοχόνδρια χάνουν την ακεραιότητά τους και η κυτταρική μεμβράνη καταστρέφεται. Το ίδιο συμβαίνει στις μεμβράνες των υπεροξυσωμάτων και των λυσοσωματίων. Τελικό αποτέλεσμα είναι η καταστροφή του κυττάρου με απελευθέρωση ενδοκυττάρων ουσιών στον παρακείμενο χώρο.





Σχήμα 2: Σχηματική παράσταση της γέννησης και των επιπτώσεων του οξειδωτικού stress

Ο όρος <<απόπτωση>> είναι συνώνυμος με τον όρο <<προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος>>. Αντίθετα με ό,τι συμβαίνει στη νέκρωση, κατά την απόπτωση δεν έχουμε έξοδο κυτταρικού περιεχομένου και βλάβη των γειτονικών κυττάρων. Οι πρώιμες βλάβες που παρατηρούνται, είναι συρρίκνωση του κυττάρου, σύμπτυξη και κατακερματισμός της χρωματίνης, καταστροφή του κυτταρικού σκελετού, κατακερματισμός του πυρήνα και, τελικά, η πλήρης διάσπαση του κυττάρου σε αποπτωτικά σωματίδια, χωρίς όμως καταστροφή των μιτοχονδριακών και λυσοσωματικών μεμβρανών και έξοδο του κυτταρικού περιεχομένου. Τα αποπτωτικά σωματίδια φαγοκυτταρώνονται από τα γειτονικά κύτταρα ή από φαγοκύτταρα.

Τα ερεθίσματα που ενεργοποιούν τον μηχανισμό της απόπτωσης είναι διαταραχές του ενεργειακού μεταβολισμού (π.χ μερική αναστολή της μιτοχονδριακής μεταφοράς ηλεκτρονίων), οξειδωτικό stress και βλάβες στο DNA από χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Τα παραπάνω ερεθίσματα μπορούν να προκαλέσουν και νέκρωση, ανάλογα με το ποια κυτταρική σειρά προσβάλλεται και πόση είναι η βαρύτητα του stress. Γενική αρχή είναι ότι υψηλά επίπεδα stress είναι πιθανότερο να προκαλέσουν νέκρωση.

Η διαδικασία της απόπτωσης θεωρείται ότι ενεργοποιείται για την καταστροφή κυττάρων που δεν χρειάζονται ή που έχουν υποστεί σοβαρές βλάβες. Σήμερα έχει αναγνωριστεί και μελετάται εντατικά ο ρόλος μιας ήπιας οξειδοαναγωγικής ανισορροπίας και η πρόκληση αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου σ'ένα μεγάλο αριθμό φυσιολογικών και παθολογικών καταστάσεων στις οποίες εμπλέκεται το οξειδωτικό stress. Υπάρχουν αρκετές μελέτες που συσχετίζουν την αυξημένη παραγωγή ΔΜΟ/ΔΜΑ και την ανεπάρκεια αντιοξειδωτικών μηχανισμών με την απόπτωση. Υπάρχουν επίσης σημαντικές ενδείξεις ότι τα μιτοχόνδρια παίζουν σημαντικό ρόλο στην απόπτωση. Η βλάβη και η καταστροφή των μιτοχονδρίων μπορεί να οδηγήσει στην απελευθέρωση πρωτεϊνών στο κυτταρόπλασμα οι οποίες προωθούν την απόπτωση όπως το κυτόχρωμα C (126).

2.7. Κυτταρικές καταστροφές από οξειδωτικό stress

2.7.1. Υπεροξειδωση λιπιδίων

Ο καλύτερα μελετημένος μηχανισμός αντίδρασης των ελευθέρων ριζών με κυτταρικά συστατικά είναι ο μηχανισμός των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, τα



οποία συνδεδεμένα με φωσφολιπίδια σχηματίζουν τις μεμβράνες του κυττάρου. Το φαινόμενο αυτό καλείται λιπιδιακή υπεροξειδωση και παρατηρείται κυρίως όταν η παραγωγή ελευθέρων ριζών υπερσχύει των κυτταρικών αμυντικών μηχανισμών. Λόγω του ότι η λιπιδιακή υπεροξειδωση χρησιμοποιείται ως ένας από τους βασικούς δείκτες οξειδωτικού stress στην παρούσα μελέτη, παρουσιάζεται αναλυτικά στο παρακάτω κεφάλαιο.

2.7.2 Βλάβες στο DNA

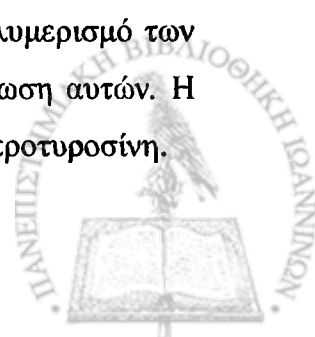
Το DNA είναι ένα πολύ ευαίσθητο μόριο στην δράση ΔΜΟ/ΔΜΑ in vivo. Οι ΔΜΟ/ΔΜΑ μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτική τροποποίηση του DNA με αποτέλεσμα την αναστολή της μεταγραφής του σε RNA και την αναστολή του διπλασιασμού του. Επίσης μπορούν να προκαλέσουν μεταλλάξεις και να οδηγήσουν στο θάνατο του κυττάρου.

Οι ρίζες υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$) φαίνεται να αποτελούν την κύρια ομάδα που προκαλεί βλάβες στο DNA. Επίσης, το μονήρες οξυγόνο και ρίζες που σχηματίζονται από την λιπιδιακή υπεροξειδωση έχουν εκλεκτική δράση και προσβάλλουν βάσεις γουανίνης. Οι δε δραστικές μορφές αζώτου μπορούν να προκαλέσουν νιτροσυλίωση και απαμίνωση σε βάσεις DNA.

2.7.3 Βλάβες στις πρωτεΐνες

Η βιολογική σημασία της οξειδωτικής βλάβης των πρωτεϊνών έχει γίνει πλήρως αντιληπτή μόλις τα τελευταία χρόνια. Η βλάβη μπορεί να συμβεί είτε από απ' ευθείας επίδραση ΔΜΟ/ΔΜΑ, αλλά και δευτερογενώς από την δράση τελικών προϊόντων λιπιδιακής υπεροξειδωσης, όπως η μαλονική αλδεύδη (MDA) και η 4-υδροξυνοενάλη (HNE).

Οι ΔΜΟ/ΔΜΑ αντιδρούν με κάποια αμινοξέα, τροποποιούν την δομή τους, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η λειτουργία ολόκληρης της πρωτεΐνης. Για παράδειγμα πρωτεΐνες που περιέχουν αμινοξέα με ελεύθερες θειολικές ομάδες ($-\text{SH}$) οξειδώνονται εύκολα δημιουργώντας θειλικές ρίζες ($-\text{S}^{\cdot}$), οι οποίες μέσα από μία αλληλουχία αντιδράσεων μπορούν να προκαλέσουν τον διμερισμό αλλά και τον πολυμερισμό των πρωτεϊνών. Οι ΔΜΑ αντιδρούν με αμινοξέα και προκαλούν νιτροσυλίωση αυτών. Η αντίδραση με την τυροσίνη οδηγεί στον σχηματισμό του προϊόντος 3-νιτροτυροσίνη.



Το τελικό αποτέλεσμα αυτών των οξειδωτικών διαφοροποιήσεων των πρωτεϊνών μπορεί να είναι: καταστροφή υποδοχέων, αλλαγή ενζυμικής δραστηριότητας, διαταραχές στις οδούς μετάδοσης μηνύματος, με συνέπεια σημαντικές αλλαγές στις ιδιότητες των μεμβρανών και των κυττάρων όπου ανήκουν οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες. Για παράδειγμα, βλάβες στις μεμβρανικές πρωτεΐνες Na^+ , K^+ -ΑΤΡασες και Ca^{++} -ΑΤΡάσες, οι οποίες περιέχουν σουλφυδρυλικές ομάδες σε καίρια σημεία, μπορεί να προκαλέσουν διαταραχές στην ομοιόσταση του καλίου και του ασβεστίου με καταστροφικά για το κύτταρο και τον οργανισμό αποτελέσματα.

2.8 Λιπιδιακή υπεροξείδωση

2.8.1 Ορισμός

Ο όρος λιπιδιακή υπεροξείδωση αναφέρεται κυρίως στην οξειδωτική βλάβη των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (ΠΛΟ). ΠΛΟ είναι τα λιπαρά οξέα που περιέχουν δύο ή περισσότερους διπλούς δεσμούς άνθρακα στο μοριό τους ($>\text{C}=\text{C}<$). Στα βιολογικά συστήματα λαμβάνει χώρα στις κυτταρικές μεμβράνες καθώς και στις μεμβράνες που περιβάλλουν τα κυτταρικά οργανίδια, όπως τα μιτοχόνδρια, τα λυσοσωμάτια και τα περοξυσωμάτια. Ο λόγος είναι ότι οι μεμβράνες αυτές περιέχουν μεγάλες ποσότητες ΠΛΟ που είναι συνδεδεμένες με φωσφολιπίδια. Οι μεμβράνες αυτές περιέχουν επίσης πρωτεΐνες, που η ποσότητά τους αυξάνεται ανάλογα με τις λειτουργίες που η μεμβράνη εκτελεί. Η αρχική αντίδραση κυρίως περιλαμβάνει τα λιπίδια των μεμβρανών και τις πρωτεϊνικές θειόλες.

Η λιπιδιακή υπεροξείδωση λαμβάνει χώρα, φυσιολογικά, σε μικρό βαθμό σε όλα τα κύτταρα και τους ιστούς (112). Οι καταστάσεις που διεγείρουν την υπεροξείδωση των λιπιδίων είναι αρκετές, όπως υπεροξία, υποξία, ισχαιμία – επανακυκλοφορία, τοξικότητα χαλκού ή σιδήρου και διαταραχές στο αντιοξειδωτικό σύστημα (127). Ο σχηματισμός ελευθέρων ριζών φαίνεται να είναι από τους βασικούς παράγοντες που πυροδοτούν τον μηχανισμό της λιπιδιακής υπεροξείδωσης.

Η λιπιδιακή υπεροξείδωση θεωρείται ως ένας από τους παθογενετικούς μηχανισμούς για την γήρανση και για διάφορες νόσους όπως ο καρκίνος, η αθηροσκλήρυνση, η ινοκυστική νόσος και η παγκρεατίτιδα.



2.8.2 Βιοχημεία

Η λιπιδιακή υπεροξειδωση πραγματοποιείται σε τρία στάδια: έναρξη, διάδοση και τερματισμός. Η έναρξη γίνεται όταν μία ελεύθερη ρίζα $X\cdot$ «επιτίθεται» σ' ένα λιπίδιο και αποσπά ένα άτομο υδρογόνου από μία μεθυλενική ομάδα ($-CH_2-$) ενός πολυακόρεστου λιπαρού οξέος. Το άτομο του υδρογόνου κατά την αφαίρεσή του εγκαταλείπει στο άτομο του άνθρακα της μεθυλενικής ομάδας το μοναδικό του ηλεκτρόνιο προκαλώντας οξειδωση του λιπαρού οξέος και τον σχηματισμό μίας καρβονικής ρίζας ($\cdot CH-$), (αντίδραση 8):



Η ύπαρξη διπλών δεσμών στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εξασθενεί τους δεσμούς άνθρακα με υδρογόνο (C-H) στα παρακείμενα άτομα άνθρακα και διευκολύνει κατ' αυτόν τον τρόπο την απόσπαση ατόμων υδρογόνου, ιδίως όταν η μεθυλενική ομάδα βρίσκεται ανάμεσα σε δύο διπλούς δεσμούς (128). Οι ελεύθερες ρίζες που μπορούν να πυροδοτήσουν την έναρξη αντιδράσεων λιπιδιακής υπεροξειδωσης είναι η ρίζα υδροξυλίου ($\cdot OH$), η ρίζα αλκοξειδίου ($RO\cdot$), η ρίζα υπεροξειδίου ($ROO\cdot$) και η ρίζα υδροπεροξειδίου ($HO_2\cdot$). Επίσης συμπλέγματα σιδήρου-οξυγόνου είναι ικανά για την αφαίρεση του ατόμου υδρογόνου και την έναρξη της υπεροξειδωσης (129).

Η καρβονική ρίζα που σχηματίστηκε συνήθως γίνεται σταθερή με την αντίδραση με μία άλλη καρβονική ρίζα και τον σχηματισμό ενός συζυγούς διενίου:

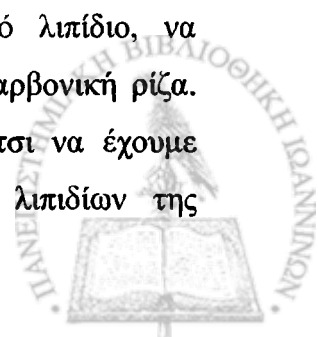


Η παραπάνω αντίδραση λαμβάνει χώρα σε αναερόβιες συνθήκες. Όταν όμως οι συνθήκες είναι αερόβιες, τότε μέσω της αντίδρασης με οξυγόνο σχηματίζεται μία υπεροξειδική ρίζα ($ROO\cdot$):



Στις περιπτώσεις που η συγκέντρωση οξυγόνου είναι χαμηλή, ευνοούνται αντιδράσεις αυτοεξουδετέρωσης των ανθρακικών λιπιδιακών ριζών και αντιδράσεις αυτών με πρωτεΐνες των μεμβρανών. Με αυτό τον τρόπο γίνεται φανερό ότι η συγκέντρωση οξυγόνου μπορεί να τροποποιήσει την εξέλιξη της λιπιδιακής υπεροξειδωσης (130).

Οι ρίζες υπεροξειδίου μπορούν να αντιδράσουν με ένα γειτονικό λιπίδιο, να αφαιρέσουν ένα άτομο υδρογόνου και να σχηματιστεί έτσι μία νέα καρβονική ρίζα. Αυτή η νέα ρίζα μπορεί να αντιδράσει με ένα άλλο λιπίδιο και έτσι να έχουμε αλυσιδωτές αντιδράσεις που οδηγούν στην οξειδωση όλων των λιπιδίων της



μεμβράνης. Η όλη διαδικασία ονομάζεται διαδικασία διάδοσης της λιπιδιακής υπεροξειδωσης.

Το προϊόν που προκύπτει από την αντίδραση της υπεροξειδικής ρίζας με το άτομο υδρογόνου ονομάζεται λιπιδικό υπεροξειδίο (ROOH):



Όπως γίνεται αντιληπτό μία μονήρης αρχική αντίδραση μίας ελεύθερης ρίζας με ένα λιπίδιο μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό πολλαπλών μορίων υπεροξειδίων ως αποτέλεσμα αλυσιδωτών αντιδράσεων. Στο σχήμα 3 φαίνεται η αλληλουχία των αντιδράσεων που οδηγούν στην υπεροξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.

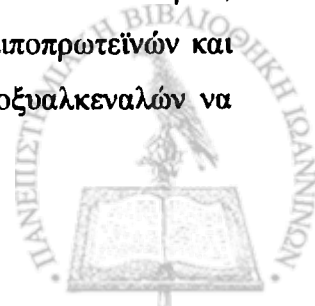
Η αλυσιδωτή αντίδραση της λιπιδιακής υπεροξειδωσης μπορεί να τερματιστεί όταν δύο ρίζες αντιδράσουν μεταξύ τους οδηγώντας στον σχηματισμό ενός προϊόντος που δεν είναι ελεύθερη ρίζα. Στις βιολογικές μεμβράνες η λιπιδιακή υπεροξειδωση τερματίζεται όταν αντιδράσουν μεταξύ τους δύο ανθρακικές ρίζες ή όταν εξαντληθούν τα μη οξειδωμένα ΠΛΟ ή όταν προστεθεί κάποιο αντιοξειδωτικό που σταματά την αλυσιδωτή αντίδραση, όπως η βιταμίνη Ε.

2.8.3 Προϊόντα λιπιδιακής υπεροξειδωσης

Η αποδόμηση των λιπιδιακών υπεροξειδίων οδηγεί στον σχηματισμό διαφόρων τελικών προϊόντων από τα οποία τα πιο σημαντικά είναι οι αλδεύδες, όπως η μηλονική διαλδεύδη (MDA) και οι υδροξυαλκενάλες (HNE και HHE).

Η μηλονική διαλδεύδη προέρχεται από την υπεροξειδωση ΠΛΟ με περισσότερους από δύο διπλούς δεσμούς όπως το λινολεϊκό, το αραχιδονικό και το δεκαεξανοϊκό οξύ. Το MDA σχηματίζεται επίσης ενζυματικά από τον μεταβολισμό των εικοσανοειδών. Το MDA είναι ικανό να οξειδώνει τις πρωτεΐνες των μεμβρανών και να αλλάζει την δομή των αμινοξέων. Μπορεί να αντιδράσει επίσης με βάσεις DNA και να προκαλέσει μεταλλάξεις (131).

Οι υδροξυαλκενάλες HNE (4-hydroxy-2-trans-nonenal) και HHE (trans 4-hydroxy-2-hexenal) είναι ακόρεστες αλδεύδες που σχηματίζονται κατά την διάρκεια λιπιδιακής υπεροξειδωσης. Το HHE είναι ιδιαίτερα τοξικό στα μιτοχόνδρια. Το HNE έχει κυτταροτοξικές ιδιότητες, όπως αναστολή της ανάπτυξης των κυττάρων, χημειοταξία πολυμορφοκυττάρων και ικανότητα τροποποίησης των λιποπρωτεϊνών και προαγωγή της αθηροσκλήρυνσης (132;133). Η ικανότητα των υδροξυαλκεναλών να



αντιδρούν με σουλφυδριλικές ομάδες (-SH) σε φυσιολογικό pH παίζει σημαντικό ρόλο στην κυτταροτοξικότητά τους.

2.8.4 Συνέπειες της υπεροξειδωσής των λιπιδίων στα κύτταρα και στον οργανισμό

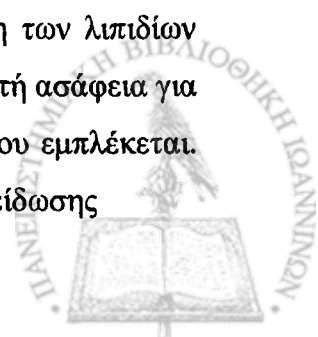
Η διαπερατότητα της μεμβράνης οφείλεται στην παρουσία ΠΛΟ που χαμηλώνουν το σημείο τήξης στο εσωτερικό της μεμβράνης, έτσι ώστε να συμπεριφέρεται χημικά και να έχει το ιξώδες ενός ελαιώδους υγρού. Η καταστροφή των ΠΛΟ μειώνει την διαπερατότητα της μεμβράνης, η οποία είναι βασική για την φυσιολογική κυτταρική λειτουργία.

Τα προϊόντα λιπιδιακής υπεροξειδωσής μπορούν επίσης να προκαλέσουν σημαντική βλάβη στις πρωτεΐνες των μεμβρανών (134). Μ' αυτόν τον τρόπο οι υποδοχείς επιφανείας των κυτταρικών μεμβρανών αδρανοποιούνται όπως και πολλά ένζυμα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η αδρανοποίηση της αντλίας νατρίου-καλίου (Na^+ , K^+ -ATPase) που παίζει σημαντικό ρόλο στην ενδοκυττάρια διατήρηση της ηλεκτρολυτικής ισορροπίας.

Συνοπτικά η λιπιδιακή υπεροξειδωσής προκαλεί:

- α) Μείωση της ρευστότητας της κυτταρικής μεμβράνης
- β) Αύξηση της διαπερατότητας σε ουσίες που κανονικά δεν διέρχονται από αυτή, παρά μόνο μέσα από ειδικά κανάλια (π.χ κανάλια ασβεστίου).
- γ) Αδρανοποίηση ενζυμικών συστημάτων.
- δ) Μεταβολές της δομής των αμινοξέων, φωσφολιπιδίων και νουκλεϊνικών οξέων λόγω της σύζευξής τους με τα αλδεϋδικά τελικά προϊόντα.
- ε) Ρήξη της μεμβράνης του κυττάρου και των μεμβρανών των κυτταρικών οργανιδίων με απελευθέρωση στην κυκλοφορία ενδοκυττάρια ουσιών.

Η διαδικασία της λιπιδιακής υπεροξειδωσής μπορεί να ανιχνευθεί και να μετρηθεί με μια πληθώρα τεχνικών. Συνήθως γίνεται καταγράφοντας την μείωση των λιπαρών οξέων, την κατανάλωση οξυγόνου κατά την διάρκεια της αλληλουχίας των αντιδράσεων και, κυρίως, μέσω του προσδιορισμού των πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων (συζυγή διένια, υπεροξειδία, ισοπροσάνια, αλδεϋδες). Με τη χρησιμοποίηση των παραπάνω τεχνικών έχει βρεθεί πως υπεροξειδωσής των λιπιδίων λαμβάνει χώρα σε πολλές παθολογικές κατάστασεις. Υπάρχει όμως αρκετή ασάφεια για το ποιος είναι ο πραγματικός ρόλος της στην παθογένεση των νόσων που εμπλέκεται. Από ό,τι φαίνεται σε πολλές περιπτώσεις τα προϊόντα λιπιδιακής υπεροξειδωσής

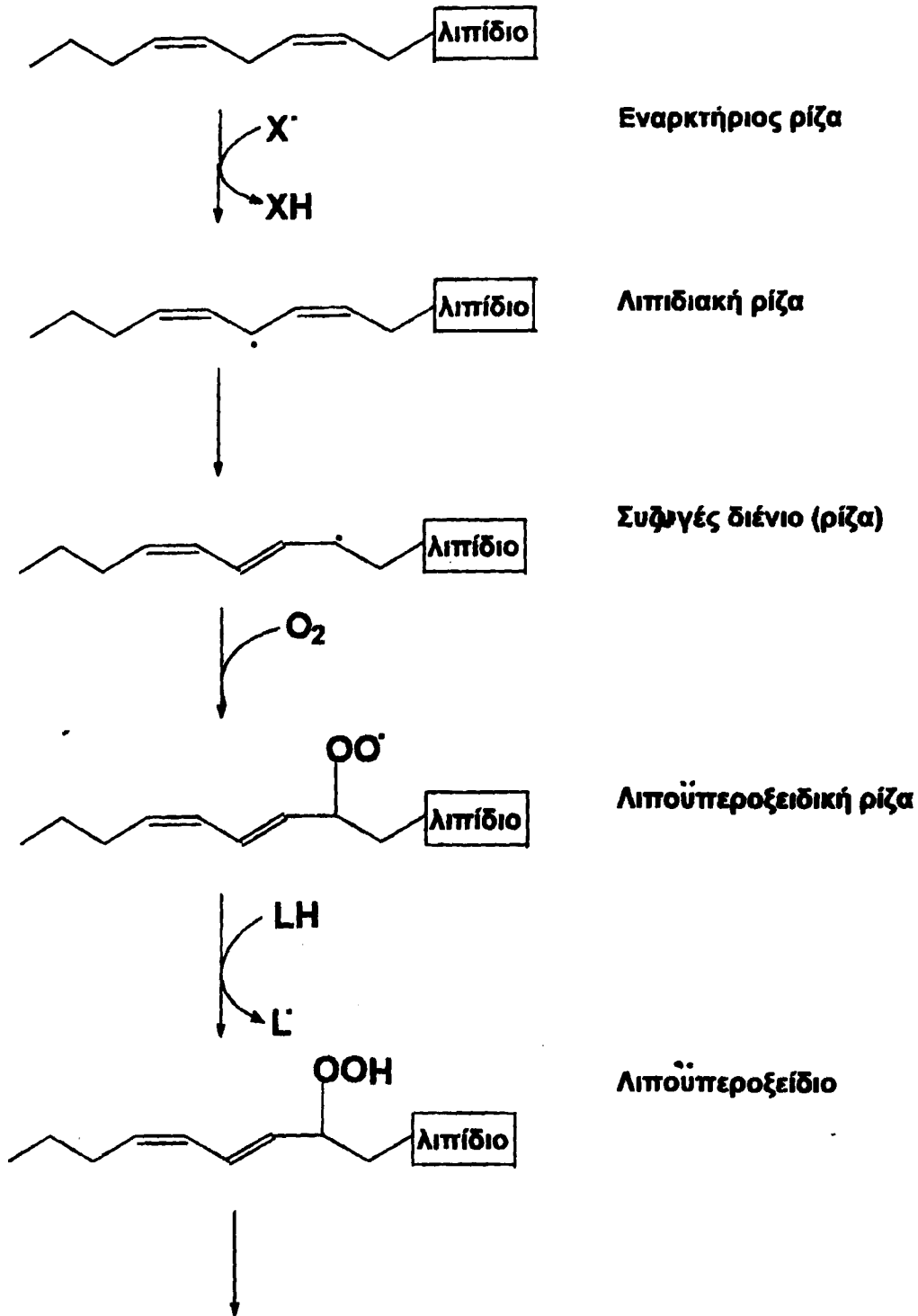


αποτελούν αγγελιαφόρους για την μετάδοση μηνυμάτων στον πυρήνα και την έκφραση γονιδίων για την διαφοροποίηση των κυττάρων, για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή ως απάντηση στην φλεγμονή (135). Επίσης, προϊόντα λιπιδιακής υπεροξειδωσης μπορεί να είναι το αποτέλεσμα κυτταρικής καταστροφής και όχι ο πρωτογενής παράγοντας παθογένεσης της νόσου (127). Οι προϋποθέσεις, που πρέπει να ικανοποιούνται ώστε να μπορούμε να εμπλέξουμε την λιπιδιακή υπεροξειδωση στην παθογένεια μιας νόσου, είναι οι ακόλουθες:

- α) Προϊόντα λιπιδιακής υπεροξειδωσης σχηματίζονται στον τόπο της φλεγμονής
- β) Η λιπιδιακή υπεροξειδωση λαμβάνει χώρα πριν από την ιστική βλάβη
- γ) Η χρήση εκκαθαριστών των ελευθέρων ριζών έχει ευεργετικά αποτελέσματα
- δ) Η ανιχνευόμενη λιπιδιακή υπεροξειδωση in vivo συνδυάζεται με ιστική βλάβη.

Με βάση τα παραπάνω κριτήρια πειραματικές και κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η λιπιδιακή υπεροξειδωση παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της αθηροσκλήρυνσης μέσω της οξειδωσης των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL) (136). Υπάρχουν επίσης σημαντικές ενδείξεις πως συμβάλλει στην παθογένεια νευροεκφυλιστικών νοσημάτων, οξειών και χρόνιων φλεγμονωδών νόσων (137) και στη γήρανση (138). Τα δε προϊόντα λιπιδιακής υπεροξειδωσης που παίζουν ρόλο ως διαβιβαστές μηνύματος είναι οι οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (ox-LDL), οξειδωμένα προϊόντα χοληστερόλης, εστέρες χοληστερόλης και κυρίως οι αλδεϋδες με κυριότερο εκπρόσωπο το HNE (139).





Διάσπαση και δημιουργία διαφόρων προϊόντων (κυρίως αλδεϋδών) αλλά και δημιουργία νέων ελευθέρων ριζών.

Σχήμα 3: Λιπιδιακή υπεροξειδωση



2.9 Αμυντικοί μηχανισμοί

Όπως είδαμε παραπάνω, η αθρόα παραγωγή ΔΜΟ/ΔΜΑ σε συνθήκες ισχαιμίας επαναιμάτωσης ή σε καταστάσεις οξείας και χρόνιας φλεγμονής είναι δυνατόν να προκαλέσει σημαντική κυτταρική βλάβη που αν είναι μη αναστρέψιμη οδηγεί στον θάνατο του κυττάρου. Ο οργανισμός έχει αναπτύξει ένα πολύπλοκο αμυντικό σύστημα για την προστασία των κυττάρων από τη δράση οξειδωτικών ουσιών. Οι ουσίες που απαρτίζουν αυτό το σύστημα καλούνται αντιοξειδωτικά. Αντιοξειδωτικό με την χημική θεώρηση του όρου είναι κάθε μόριο που μπορεί να δράσει ως δότης ηλεκτρονίων προς έναν οξειδωτικό παράγοντα και μ' αυτόν τον τρόπο να προφυλάξει άλλα μόρια που θα ήταν στόχοι αυτού του παράγοντα (140). Ένας άλλος πιο γενικός ορισμός, ο οποίος όμως θα ταίριαζε περισσότερο σε μία βιολογική θεώρηση του όρου είναι ο ακόλουθος: αντιοξειδωτικό είναι κάθε ουσία, η παρουσία της οποίας είναι ικανή να προστατεύσει ένα βιολογικό σύστημα, όπως ένα κύτταρο ή οργανισμό από βλάβες οι οποίες προκαλούνται από την έκθεσή του σε συνθήκες αυξημένου οξειδωτικού stress (141).

Τα αντιοξειδωτικά συστήματα διακρίνονται σε ενδοκυττάρια, εξωκυττάρια και συστήματα των κυτταρικών μεμβρανών. Στο ενδοκυττάριο αντιοξειδωτικό σύστημα ανήκουν η δισμουτάση του σουπεροξειδίου, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και η καταλάση. Επιπλέον, η φυσιολογική δράση του ενζύμου κυτοχρωμική οξειδάση, που αποτελεί το τελικό ένζυμο της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων, προστατεύει από την ενδοκυττάρια αθρόα παραγωγή ελευθέρων ριζών (104).

2.9.1 Ενδοκυττάρια αντιοξειδωτικά ένζυμα

Η δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD) έχει ανιχνευθεί σχεδόν σε όλους τους αερόβιους οργανισμούς (142) και καταλύει την αντίδραση:



Η αντίδραση αυτή μπορεί να λάβει χώρα και χωρίς την παρουσία της SOD, αλλά η ύπαρξη της SOD επιταχύνει σημαντικά την ταχύτητα της αντίδρασης. Υπάρχουν τρεις μορφές του ενζύμου: η πρώτη περιέχει χαλκό και ψευδάργυρο (Cu/ZnSOD) και βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα η δεύτερη περιέχει μαγγάνιο (MnSOD) και βρίσκεται στα μιτοχόνδρια και η τρίτη περιέχει σίδηρο (FeSOD) και έχει ανιχνευθεί σε πολλά βακτηρίδια.



Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Px-GSH) αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά ενδοκυττάρια αντιοξειδωτικά συστήματα για την εξουδετέρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και των λιπιδικών υδροϋπεροξειδίων (143). Βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα και στα μιτοχόνδρια και για την δέσμευση του υπεροξειδίου του υδρογόνου χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα την αναχθείσα γλουταθειόνη (GSH), την οποία οξειδώνει σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:



Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης βρίσκεται σε όλους τους ιστούς.

Λόγω της πολύ υψηλής δραστηριότητάς της στα κύτταρα του ήπατος μπορεί να απενεργοποιήσει πολύ μεγάλες ποσότητες H_2O_2 πολύ αποτελεσματικά. Η ικανότητα δράσης της εξαρτάται από την διαθέσιμη ποσότητα ενδοκυττάριας GSH και την ικανότητα των κυττάρων να επαναγάγουν την οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG) μέσω της GSH αναγωγάσης.

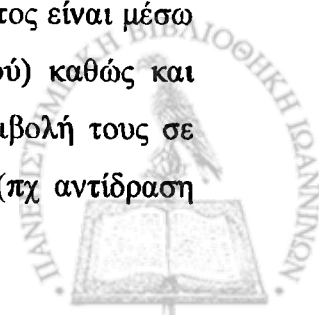
Η καταλάση είναι ένα ένζυμο που ανευρίσκεται σχεδόν σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις της παρατηρούνται στα ερυθροκύτταρα και στο ήπαρ, ενώ αντίθετα, η καρδιά, ο εγκέφαλος και οι μύες έχουν χαμηλές συγκεντρώσεις. Το ένζυμο αυτό, που απαντάται στα υπεροξυσωμάτια του ήπατος και των νεφρών και στο κυτταρόπλασμα των καρδιακών κυττάρων, καταλύει την αντίδραση:



Οι πιο πολλές μορφές καταλάσης αποτελούνται από τέσσερις υπομονάδες με ένα μόριο αίμης στην ενεργή περιοχή κάθε υπομονάδας.

2.9.2 Εξωκυττάρια αντιοξειδωτικά συστήματα

Ο οργανισμός εκτός από τα ενδοκυττάρια ένζυμα διαθέτει και έναν άλλο σημαντικό μηχανισμό αντίστασης εναντίον του οξειδωτικού stress. Αυτός αποτελείται από ουσίες που βρίσκονται στα βιολογικά υγρά του σώματος (πλάσμα, εγκεφαλονωτιαίο υγρό, υγρό ορογόνων υμένων). Οι ουσίες αυτές ασκούν την προστατευτική τους δράση κυρίως μέσω δύο μηχανισμών (144). Ο πρώτος είναι μέσω της δέσμευσης ελεύθερων ιόντων μετάλλων (π.χ σιδήρου και χαλκού) καθώς και ελεύθερης αίμης ή αιμοσφαιρίνης έτσι ώστε να αναστέλλουν την συμβολή τους σε αντιδράσεις οι οποίες προκαλούν την δημιουργία ελευθέρων ριζών (πχ αντίδραση



Fenton). Τέτοιες ουσίες είναι οι πρωτεΐνες τρανσφερρίνη, λακτοφερρίνη, οι οποίες δρουν ως δεσμευτές ιόντων σιδήρου(Fe^{++}), η σερουλοπλασμίνη και η αλβουμίνη, οι οποίες δρουν ως δεσμευτές ιόντων χαλκού.

Ο δεύτερος μηχανισμός είναι μέσω της αναγωγής των ελευθέρων ριζών σε λιγότερο τοξικές μορφές. Τα μόρια, που δρουν μέσω αυτού του μηχανισμού, ονομάζονται εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών. Οι εκκαθαριστές (AH) αναστέλλουν οξειδώσεις προκαλούμενες από ελεύθερες ρίζες αποδίδοντας ένα άτομο υδρογόνου, σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:



Η δε ελεύθερη ρίζα των αντιοξειδωτικών, λόγω της χημικής της δομής δεν είναι δραστική. Οι ουσίες που δρουν ως εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών είναι κυρίως μικρομοριακές ενώσεις και, κύριοι εκρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι το ασκορβικό οξύ, το ουρικό οξύ και η χολερυθρίνη.

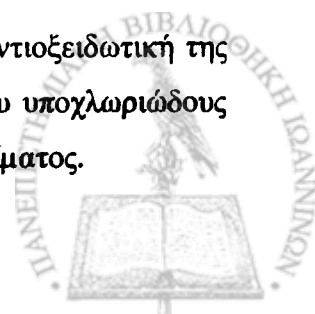
Η γλυκοπρωτεΐνη τρανσφερρίνη έχει την ικανότητα να δεσμεύει ιόντα Fe^{+++} για την μεταφορά και την απόδοσή τους στα κύτταρα. Μ' αυτόν τον τρόπο δεν τους επιτρέπει να συμμετέχουν σε αντιδράσεις παραγωγής υδροξυλικής ρίζας ($\cdot\text{OH}$) ή λιπιδιακής υπεροξειδωσης (145).

Η λακτοφερρίνη, που δεσμεύει επίσης ιόντα σιδήρου, υπάρχει στο γάλα και εκλύεται επίσης από τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα πιθανώς για να εξουδετερώσει την διάχυση των βλαπτικών επιδράσεων των δραστικών μορφών οξυγόνου σε παραπλήσιους υγιείς ιστούς.

Η σερουλοπλασμίνη έχει την ικανότητα να δεσμεύει ιόντα χαλκού και έχει θεωρηθεί ότι αποτελεί το φυσιολογικό αναστολέα της λιπιδιακής υπεροξειδωσης. Έχει επίσης την ικανότητα να μετατρέπει τον δισθενή σίδηρο σε τρισθενή δια μέσου μεταφοράς ηλεκτρονίων.

Οι πρωτεΐνες αιμοσφαιρίνη και αιμοπηξίνη βρίσκονται στο πλάσμα και δεσμεύουν επιλεκτικά ελεύθερη αιμοσφαιρίνη και αίμη αντίστοιχα. Με αυτό τον τρόπο αποτρέπουν την οξείδωση της αίμης και την δημιουργία ανώτερων μορφών οξείδωσης που μπορούν να προσβάλλουν τα κυτταρικά συστήματα με την ίδια ευκολία με την οποία δρουν οι ρίζες υδροξυλίου.

Η αλβουμίνη είναι πρωτεΐνη του πλάσματος που ασκεί την αντιοξειδωτική της δράση μέσω της δέσμευσης ιόντων χαλκού και της εκκαθάρισης του υποχλωριώδους οξέος (HOCl), που εκλύεται από τα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα του αίματος.



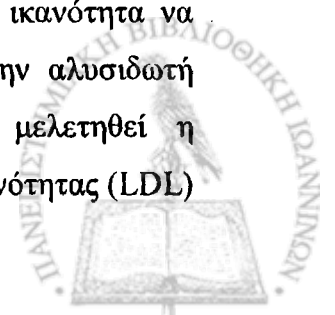
Η χολερυθρίνη παράγεται από τον καταβολισμό της αίμης και μεταφέρεται στο πλάσμα συνδεδεμένη με την αλβουμίνη. Έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την λιπιδιακή υπεροξειδωση.

Το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) είναι από τους πιο σημαντικούς αντιοξειδωτικούς παράγοντες του πλάσματος. Ασκει την δράση του κυρίως ως εκκαθαριστής πολλών ΔΜΟ/ΔΜΑ. Αντιδρά και απενεργοποιεί άμεσα το ανιόν του σουπεροξειδίου, την υδροπεροξειδική ρίζα, την ρίζα του υδροξυλίου, το υποχλωριώδες οξύ, το μονήρες οξυγόνο και σουλφυδρυλικές ρίζες. Συμμετέχει επίσης στην αναγέννηση της ρίζας της α-τοκοφερόλης. Σε καταστάσεις οξειδωτικού stress, η συγκέντρωσή του στο πλάσμα μειώνεται σημαντικά (146). Η ικανότητα σύνθεσης του ασκορβικού οξέος έχει χαθεί κατά την διάρκεια της εξέλιξης από έναν μικρό αριθμό ανώτερων θηλαστικών όπως ο άνθρωπος και ο πίθηκος με αποτέλεσμα να είναι απαραίτητη η πρόσληψή του από τη τροφή. Η μη επαρκής πρόσληψη από την τροφή προκαλεί την νόσο σκορβούτο, με πρώτο σημείο εκδήλωσης την αιμορραγία από τα ούλα.

Το ουρικό οξύ παράγεται στα θηλαστικά ως τελικό προϊόν του μεταβολισμού των πουρινών. Παράγεται επίσης σε συνθήκες ισχαιμίας – επαναϊμάτωσης από την οξείδωση της υποξανθίνης μέσω της αντίδρασης που καταλύεται από το ένζυμο οξειδάση της ξανθίνης. Θεωρείται ως ένα από τα πιο σημαντικά υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά in vivo (147). Ασκει την αντιοξειδωτική του δράση ως εκκαθαριστής ΔΜΟ/ΔΜΑ (ρίζα υδροξυλίου, ρίζα υπεροξειδίου, μονήρες οξυγόνο, περοξυνιτρώδες), αλλά και ως δεσμευτής μετάλλων μετάπτωσης (ιόντα σιδήρου και χαλκού).

2.9.3 Αντιοξειδωτικά συστήματα των κυτταρικών μεμβρανών

Οι κύριοι εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E), το β-καροτένιο και το συνένζυμο Q. Η α-τοκοφερόλη χημικά και βιολογικά είναι το πιο δραστικό ισομερές της βιταμίνης E. Βρίσκεται κυρίως στα φυτικά έλαια και είναι απαραίτητο συστατικό της διατροφής των ζώων και του ανθρώπου. Στους ζώντες οργανισμούς εντοπίζεται στις κυτταρικές μεμβράνες και στις λιποπρωτεΐνες. Είναι λιπόφιλο μόριο και ισχυρά αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό. Έχει την ικανότητα να αντιδρά με τις λιπούπεροξειδικές ρίζες (LOO[•]) και να διακόπτει την αλυσιδωτή αντίδραση της λιπιδιακής υπεροξειδωσης (148). Ιδιαίτερα έχει μελετηθεί η ανασταλτική της δράση στην οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL)



(149). Οι κρατούσες θεωρίες είναι ότι αυτή η προστατευτική δράση οφείλεται στην αναστολή της πρωτεϊνικής κινάσης (CPK). Η CPK φαίνεται να είναι υπεύθυνη για την απελευθέρωση ελευθέρων ριζών και την έναρξη λιπιδικής υπεροξειδωσης (150).

Η α-τοκοφερόλη φαίνεται να τροποποιεί επίσης την έκφραση των γονιδίων με ένα μηχανισμό που δεν σχετίζεται με την αντιοξειδωτική της δράση (151).

Όπως γίνεται αντιληπτό η μέτρηση των επιπέδων των αντιοξειδωτικών ουσιών στο πλάσμα και η καταγραφή των μεταβολών τους υπό συνθήκες οξειδωτικού stress θα δώσει χρήσιμες πληροφορίες για την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού καθώς και για την βαρύτητα του stress. Η δε μέτρηση προϊόντων λιπιδιακής υπεροξειδωσης, η καταγραφή των μεταβολών των επιπέδων τους σε συνθήκες οξειδωτικού stress και η ανίχνευση τυχόν ιστικής βλάβης, θα δώσει επίσης σημαντικές πληροφορίες για τον ρόλο των οξειδωτικών παραγόντων και τη δυναμική ισορροπία οξειδωτικών-αντιοξειδωτικών παραγόντων στον οργανισμό.



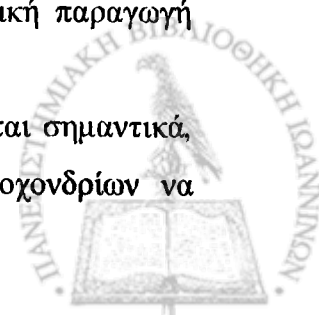
Γ. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ – ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ

Η διακοπή της αιματικής ροής σ'ένα όργανο ή ιστό (ισχαιμία) και η ακόλουθη επαναιμάτωση οδηγεί σε μία οξεία φλεγμονώδη αντίδραση που μπορεί να προκαλέσει σημαντική κυτταρική βλάβη και δυσλειτουργία οργάνων. Στις αρχές της δεκαετίας του 1980 οι Granger και συνεργάτες έκαναν μία πρωτοποριακή εργασία σχετικά με την ισχαιμία και επαναιμάτωση εντέρου γάτας (152). Διαπίστωσαν πως κατά την διάρκεια της διακοπής της αιμάτωσης του εντέρου, οι βλάβες δεν προκαλούνται μόνο από την ισχαιμία, αλλά συνεχίζονται και κατά την επαναιμάτωση αυτού και μάλιστα σε σημαντικότερο βαθμό. Χορηγώντας αλλοπουρινόλη, που είναι αναστολέας της οξειδάσης της ξανθίνης, παρατήρησαν πως ο βαθμός της βλάβης μειώνεται σημαντικά (153). Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στην υπόθεση πως αίτιο της βλάβης είναι η δημιουργία και απελευθέρωση ανιόντων σουπεροξειδίου από το ένζυμο οξειδάση της ξανθίνης. Έκτοτε σημαντική βασική έρευνα έχει γίνει στο ανωτέρω πεδίο που πρόσφερε σημαντικές γνώσεις για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας του συνδρόμου ισχαιμίας – επαναιμάτωσης. Όπως θα δούμε παρακάτω ο μηχανισμός είναι πολύπλοκος με την ενεργοποίηση πολλών μεταβολικών οδών και την έκφραση διαφόρων μεσολαβητών. Στην παρούσα μελέτη περιγράφεται η παθοφυσιολογία της ηπατικής βλάβης από ισχαιμία – επανακυκλοφορία καθότι αυτό είναι και το αντικείμενο της εργασίας. Η παθοφυσιολογία του συνδρόμου σε άλλα όργανα παρουσιάζει ομοιότητες αλλά και διαφορές. Η κλινική σημασία του συνδρόμου είναι μεγάλη καθότι απαντάται σε μεγάλο φάσμα κλινικών οντοτήτων, ειδικά στον χώρο της χειρουργικής (154;155).

3.1 Κυτταρικός μηχανισμός βλάβης κατά την ισχαιμία

Η διαδικασία του κυτταρικού θανάτου κατά την ισχαιμία έχει μελετηθεί για πολλά χρόνια και έχουν προταθεί διάφορες θεωρίες για την αλληλουχία των γεγονότων. Σε αερόβιες καταστάσεις η ενέργεια για την διατήρηση της ομοιοστασίας του κυττάρου παράγεται στην αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων. Το οξυγόνο υφίσταται τετραδύναμη αναγωγή από το ένζυμο οξειδάση κυτοχρώματος με τελική παραγωγή ATP και νερού (100).

Σε καταστάσεις ισχαιμίας ή υποξίας η παροχή οξυγόνου ελαττώνεται σημαντικά, με αποτέλεσμα η λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων να



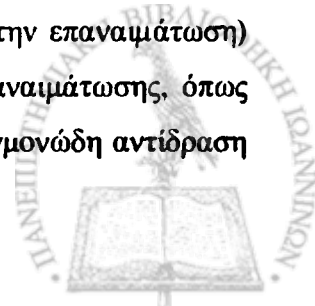
αναστέλλεται και η οξειδάση του κυτοχρώματος να βρίσκεται σε ανηγμένη κατάσταση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της σύνθεσης ATP. Για να ανταποκριθεί ο οργανισμός στις συνεχιζόμενες μεταβολικές απαιτήσεις γίνεται κατανάλωση των ενδοκυττάρια αποθηκευμένων μορίων ATP. Αυτό προκαλεί διαταραχές στην διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης μέσω της αναστολής της ATP εξαρτώμενης νάτριο/κάλιο ATPάσης. Το αποτέλεσμα είναι η είσοδος μεγάλων ποσοτήτων νατρίου ενδοκυττάρια, που προκαλούν κυτταρικό οίδημα και θάνατο (156).

Ένα άλλο σημαντικό γεγονός που λαμβάνει χώρα κατά την ισχαιμία είναι η απελευθέρωση ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα και η αναστολή της αντλίας ασβεστίου (157). Το αθροϊζόμενο κυτταροπλασματικό ασβέστιο προκαλεί ενεργοποίηση των φωσφολιπασών της κυτταρικής μεμβράνης με αποτέλεσμα αποδόμηση των φωσφολιπιδίων και διαταραχή της κυτταρικής μεμβράνης. Το ασβέστιο επίσης ενεργοποιεί τη δεϋδρογονάση της ξανθίνης και τη μετατροπή της σε οξειδάση της ξανθίνης (158) που, όπως θα δούμε, παίζει ρόλο στην παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά την επαναμιάτωση.

3.2 Κυτταρικός μηχανισμός βλάβης κατά την επαναμιάτωση

Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχουν δύο διαφορετικές φάσεις ηπατικής βλάβης μετά από ισχαιμία και επαναμιάτωση. Η πρώτη φάση (<2 ώρες μετά την επαναμιάτωση) χαρακτηρίζεται κυρίως από την ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer (159;160). Η ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer και η συνακόλουθη παραγωγή ελευθέρων ριζών, όπως ανιόντος σουπεροξειδίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου, οδηγούν σε οξεία ηπατοκυτταρική βλάβη. Η αναστολή της δράσης των κυττάρων Kupffer με την χρήση γλωριούχου γαδολινίου ελαττώνει τον βαθμό της ηπατικής βλάβης κατά την πρώτη φάση. Ένας άλλος παράγοντας, που φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο κατά την πρώτη φάση, είναι η ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Έχει παρατηρηθεί πως αναστολή της ενεργοποίησης του συμπληρώματος μειώνει το οξειδωτικό stress εξαιτίας της ενεργοποίησης των κυττάρων Kupffer (161). Αντίθετα, η ενεργοποίηση του συμπληρώματος επιδεινώνει την ηπατική βλάβη.

Η έκταση της βλάβης κατά την πρώτη φάση είναι σημαντικά μικρότερη σε σχέση με αυτή που παρατηρείται κατά την όψιμη φάση (> 4 ώρες μετά την επαναμιάτωση) (162). Γεγονότα που συμβαίνουν κατά την αρχική φάση της επαναμιάτωσης, όπως ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer, οδηγούν σε μία σύνθετη φλεγμονώδη αντίδραση

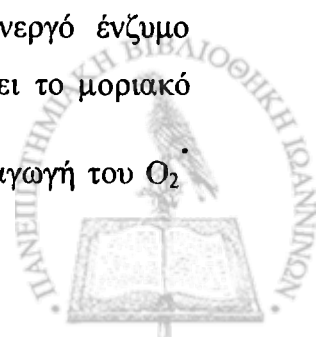


που έχει ως τελικό αποτέλεσμα την ενεργοποίηση, προσέλκυση και συσσώρευση πολυμορφοπυρήνων στο ήπαρ. Τα ενεργοποιημένα πολυμορφοπύρηνα έχουν άμεση τοξική δράση στα ηπατοκύτταρα μέσω της απελευθέρωσης ελευθέρων ριζών και πρωτεασών. Είναι τα κυρίως υπεύθυνα κύτταρα για τα συμβάντα, που λαμβάνουν χώρα κατά την όψιμη φάση της ηπατικής βλάβης από ισχαιμία-επαναιμάτωση (163).

Όπως φαίνεται στο σχήμα 1 και περιγράφεται παρακάτω, μία σύνθετη αλληλουχία από μεσολαβητές της φλεγμονής ενεργοποιείται από την ηπατική ισχαιμία και επαναιμάτωση. Ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή και απελευθέρωση κυτταροκινών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης του όγκου α (TNF- α) και ιντερλευκίνη 1 β (IL-1 β). Οι κυτταροκίνες αυτές επιδρούν στα γειτονικά ηπατοκύτταρα με παραγωγή νέων κυτταροκινών και χυμοκινών. Πειραματικές μελέτες (164) έδειξαν ότι μία άλλη κυτταροκίνη παράγεται από τα ηπατοκύτταρα κατά την φάση της ισχαιμίας και της πρώιμης επαναιμάτωσης, πριν από την παραγωγή των TNF- α και IL-1 β . Η κυτταροκίνη αυτή ονομάζεται ιντελευκίνη 12 (IL-12) και φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην φλεγμονώδη διεργασία.

Ο TNF- α είναι ο κεντρικός μεσολαβητής της ηπατικής αντίδρασης σε καταστάσεις ισχαιμίας – επαναιμάτωσης. Η ηπατική παραγωγή του TNF- α αυξάνεται αμέσως μετά την επαναιμάτωση και έχει έντονες επιδράσεις όχι μόνο στο τοπικό ηπατικό περιβάλλον, αλλά και στην λειτουργία απομακρυσμένων οργάνων, όπως οι πνεύμονες. Ο TNF- α πυροδοτεί την φλεγμονώδη αντίδραση στο ήπαρ και στα απομακρυσμένα όργανα μέσω της έκφρασης μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων και της διέγερσης της παραγωγής και απελευθέρωσης χυμοκινών, που προσελκύουν τα πολυμορφοπύρηνα (165;166).

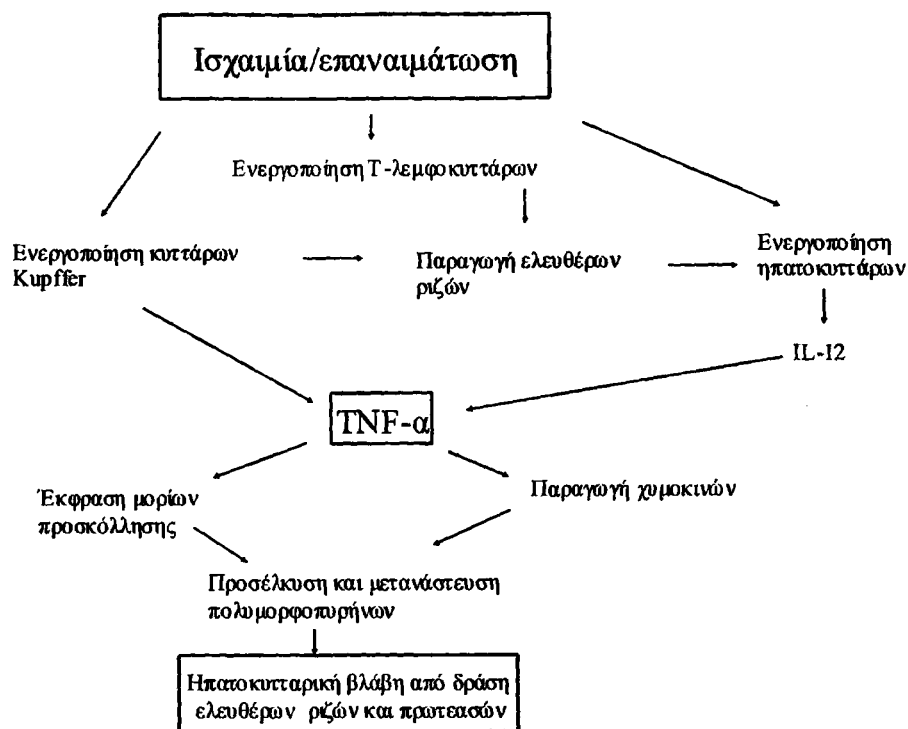
Η συσσώρευση των πολυμορφοπυρήνων στο ηπατικό παρέγχυμα προκαλεί καταστροφή των ηπατοκυττάρων διά της απελευθέρωσης ελευθέρων ριζών και πρωτεασών. Η πρωτογενής οδός παραγωγής ελευθέρων ριζών περιλαμβάνει το ένζυμο οξειδάση της NADPH (162;167). Υπό φυσιολογικές συνθήκες το ένζυμο αυτό βρίσκεται σε αδρανή μορφή σε υπομονάδες στην κυτταρική μεμβράνη και στο κυτταρόπλασμα. Η ενεργοποίηση του κυττάρου προκαλεί μετακίνηση των κυτταροπλασματικών υπομονάδων στην κυτταρική μεμβράνη, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός συμπλέγματος με δραστηριότητα οξειδάσης. Το ενεργό ένζυμο οξειδώνει την NADPH και το ηλεκτρόνιο που απελευθερώνεται ανάγει το μοριακό οξυγόνο σχηματίζοντας ανιόν του σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot -}$). Περαιτέρω αναγωγή του O_2



έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), το οποίο μπορεί να αναχθεί σε υδροξυλική ρίζα (HO^\cdot), που είναι η πιο δραστική από τις ελεύθερες ρίζες. Η μυελοπεροξειδάση που απελευθερώνεται από τα κοκκία των ουδετεροφίλων παρουσία ανιόντων όπως το χλώριο (Cl^-), μετατρέπει με ενζυμική δράση το H_2O_2 σε υποχλωριώδες οξύ ($HOCl$), μία άλλη δραστική μορφή οξυγόνου με οξειδωτική δράση (168). Η παραγωγή O_2^\cdot , H_2O_2 , HO^\cdot και $HOCl$ μπορούν να προξενήσουν ηπατοκυτταρική καταστροφή με απευθείας δράση ή με την απενεργοποίηση των ενδογενών αντι-πρωτεασών και την διευκόλυνση της δράσης των πρωτεασών. Οι πρωτεάσες εκκρίνονται από τα ενεργοποιημένα πολυμορφοπύρρηνα μέσω της διαδικασίας της εξωκυττάρωσης (169). Οι κυριότερες πρωτεάσες είναι η ελαστάση, η καθεψίνη G, η ηπαρινάση, η κολλαγενάση και τα υδrolυτικά ένζυμα. Όλες αυτές έχουν άμεση τοξική δράση στα ηπατοκύτταρα.

Ένα άλλο είδος κυττάρων που συμμετέχει στον μηχανισμό της βλάβης από ισχαιμία –επαναιμάτωση είναι τα T λεμφοκύτταρα (170). Υπάρχουν πειραματικές ενδείξεις ότι τα $CD4^+$ T λεμφοκύτταρα συσσωρεύονται στα ηπατικά κολποειδή κατά την πρόιμη φάση της επαναιμάτωσης και συνεισφέρουν στην επιδείνωση της ηπατικής λειτουργίας (171-173). Ένας από τους βασικούς ρόλους τους είναι ότι δρουν ως μεσολαβητές για την προσέλκυση πολυμορφοπυρήνων.





Σχήμα 1: Σχηματική αναπαράσταση της παθοφυσιολογίας της ηπατικής βλάβης σε καταστάσεις ισχαιμίας - επαναιμάτωσης.

Είναι προφανές ότι οι ελεύθερες ρίζες παίζουν κεντρικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της ηπατικής βλάβης από ισχαιμία - επαναιμάτωση. Μπορούν να έχουν άμεση τοξική δράση στις πρωτεΐνες, στα νουκλεϊκά οξέα, στα ένζυμα και στα λιπίδια των μεμβρανών, αλλά και έμμεση δράση μέσω της δημιουργίας ευνοϊκού περιβάλλοντος για την δράση των πρωτεασών. Μπορούν να δημιουργηθούν είτε ενδοκυττάρια, οπότε έχουμε το ενδοκυττάριο οξειδωτικό stress, είτε εξωκυττάρια, οπότε έχουμε το εξωκυττάριο οξειδωτικό stress (174). Η κυριότερη ενδοκυττάρια πηγή δημιουργίας ελευθέρων ριζών είναι τα μιτοχόνδρια. Με την επανεισαγωγή οξυγόνου στα ισχαιμικά κύτταρα οι μεταφορείς ηλεκτρονίων δημιουργούν μία έκρηξη παραγωγής ανιόντος του σουπεροξειδίου (O_2^-) στην αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων. Ένα άλλο σύστημα που έχει ενοχοποιηθεί για ενδοκυττάρια παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι το σύστημα της οξειδάσης της ξανθίνης, αλλά φαίνεται ότι ο ρόλος του στην πρόκληση ηπατικής βλάβης από ισχαιμία - επαναιμάτωση είναι περιορισμένος (174;175).



Οι εξωκυττάρια πηγές δημιουργίας ελευθέρων ριζών περιλαμβάνουν ενεργοποιημένα κύτταρα του ηπατικού παρεγχύματος, όπως τα κύτταρα Kupffer, καθώς και φλεγμονώδη κύτταρα που μεταναστεύουν στο σημείο της φλεγμονής, όπως τα πολυμορφοπύρρηνα.

3.3 Κλινικές επιπτώσεις του συνδρόμου ισχαιμίας - επαναϊμάτωσης

Όπως αναφέρθηκε, η διακοπή της αιματικής ροής σε ένα όργανο ή ιστό και η επακόλουθη επαναϊμάτωση οδηγεί σε μία οξεία φλεγμονώδη αντίδραση, που μπορεί να προκαλέσει σημαντική κυτταρική καταστροφή και οργανική δυσλειτουργία. Ειδικά, ηπατική βλάβη σε καταστάσεις ισχαιμίας - επαναϊμάτωσης μπορεί να παρατηρηθεί σε αρκετές κλινικές καταστάσεις. Αυτές μπορεί να είναι καταστάσεις ισχαιμίας λόγω χαμηλής αιματικής ροής (39;176;177) (low flow ischemia), όπως αιμορραγικό shock με επακόλουθη ανάταξη, καρδιοχειρουργικές και θωρακοχειρουργικές επεμβάσεις με χρήση εξωσωματικής κυκλοφορίας, καταστάσεις αυξημένης ενδοκοιλιακής πίεσης (σύνδρομο κοιλιακού διαμερίσματος, εισαγωγή πνευμοπεριτοναίου στην λαπαροσκοπική χειρουργική). Επίσης παρατηρείται σε καταστάσεις πλήρους ηπατικής ισχαιμίας (178;179), όπως στη χειρουργική ήπατος με χειρισμό Pringle και στις μεταμοσχεύσεις ήπατος. Συνέπειες του συνδρόμου ισχαιμίας - επαναϊμάτωσης μπορεί να είναι ηπατική ανεπάρκεια, απόρριψη μοσχεύματος και, σε πιο σοβαρές καταστάσεις, ανεπάρκεια πολλαπλών οργάνων (178;180). Οι καταστάσεις αυτές αυξάνουν σημαντικά τη νοσηρότητα και τη θνητότητα. Γι' αυτό είναι απαραίτητη η πλήρης κατανόηση της παθοφυσιολογίας του συνδρόμου, η εφαρμογή προληπτικών μέτρων και η ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών για την μείωση των συνέπειών του.



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



Δ. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Για πολλές δεκαετίες η λαπαροσκοπική χειρουργική χρησιμοποιείτο σχεδόν αποκλειστικά από γυναικολόγους, για διαγνωστικούς σκοπούς και για την εκτέλεση επεμβάσεων μικρής διάρκειας.

Σήμερα, ένα μεγάλο ποσοστό χειρουργικών κοιλιακών επεμβάσεων γίνεται λαπαροσκοπικά και στο άμεσο μέλλον μπορούμε να αναμένουμε την εφαρμογή της λαπαροσκοπικής χειρουργικής στην εκτέλεση πιο δύσκολων και πιο χρονοβόρων επεμβάσεων ακόμη και σε ηλικιωμένους ασθενείς.

Παρόλο που η λαπαροσκοπική χειρουργική έχει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με την ανοιχτή χειρουργική, η ανάγκη εισαγωγής διοξειδίου του άνθρακα στην περιτοναϊκή κοιλότητα, για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου, έχει κάποιες αρνητικές συνέπειες. Το πνευμοπεριτόναιο αυξάνει την ενδοκοιλιακή πίεση και πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση προκαλεί σπλαχνική ισχαιμία (31;32), που με την σειρά της οδηγεί στην παραγωγή ελευθέρων ριζών και σε μετανάστευση μικροβίων σε επίμυες (37).

Σχετικά πρόσφατες κλινικές μελέτες έδειξαν ότι κατά την διάρκεια της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής, η αιματική ροή στα ενδοκοιλιακά όργανα μειώνεται, η ροή στην πυλαία φλέβα μειώνεται σημαντικά με αποτέλεσμα σπλαχνική ισχαιμία (39;181). Η άρση του πνευμοπεριτοναίου οδηγεί σε αποκατάσταση της σπλαχνικής μικροκυκλοφορίας. Σύμφωνα λοιπόν με τα ανωτέρω, μία λαπαροσκοπική επέμβαση με εισαγωγή και άρση πνευμοπεριτοναίου αποτελεί μοντέλο ισχαιμίας – επαναιμάτωσης.

Είναι γνωστό ότι συνθήκες ισχαιμίας-επαναιμάτωσης προκαλούν μια πολύπλοκη μεταβολική αντίδραση του οργανισμού, το γνωστό σύνδρομο ισχαιμίας – επαναιμάτωσης. Βασικά στοιχεία αυτού του συνδρόμου είναι η παραγωγή ελευθέρων ριζών και η κινητοποίηση του ενδογενούς αντιοξειδωτικού συστήματος. Μία από τις σημαντικές ουσίες του εξωκυττάριου αντιοξειδωτικού συστήματος είναι το ουρικό οξύ.

Κλινικές μελέτες (42;182) έχουν δείξει ότι μετά από μία λαπαροσκοπική επέμβαση παρατηρείται αύξηση των ηπατικών ενζύμων, χωρίς όμως η αιτιολογία αυτού του φαινομένου να έχει πλήρως αιτιολογηθεί.



Άλλα στοιχεία που φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο, στις επιδράσεις του πνευμοπεριτοναίου στον οργανισμό, είναι η θέση του ασθενούς και η διάρκεια της επέμβασης (41;183).

Είναι γενικά αποδεκτό ότι η λαπαροσκοπική χειρουργική υπερτερεί της ανοιχτής χειρουργικής στο ότι το χειρουργικό τραύμα είναι αρκετά μικρότερο και η νευροενδοκρινική απάντηση του οργανισμού μικρότερη. Αποτέλεσμα είναι το καλύτερο αισθητικό αποτέλεσμα, ο μικρότερος χρόνος νοσηλείας και η γρηγορότερη επιστροφή στην εργασία. Λόγω αυτών των πλεονεκτημάτων η λαπαροσκοπική χειρουργική έγινε ιδιαίτερα δημοφιλής στους ασθενείς και άρχισε να εφαρμόζεται ευρέως. Η ευρεία κλινική εφαρμογή όμως της λαπαροσκοπικής χειρουργικής εδραιώθηκε χωρίς προηγουμένως η παθοφυσιολογία του πνευμοπεριτοναίου και οι πιθανές επιπτώσεις του στην λειτουργία του οργανισμού να έχουν διερευνηθεί πλήρως.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν:

- I. Η διερεύνηση της ύπαρξης ή όχι οξειδωτικού stress κατά την διάρκεια λαπαροσκοπικών επεμβάσεων.
- II. Η μελέτη της πιθανής επίδρασης του πνευμοπεριτοναίου στην ηπατική λειτουργία.
- III. Η μελέτη των μεταβολών των επιπέδων ουρικού οξέος στις λαπαροσκοπικές επεμβάσεις.

Για την επίτευξη του στόχου αυτού σχεδιάστηκε μια προοπτική κλινική μελέτη, όπου σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπικές ή ανοιχτές χολοκυστεκτομές (ομάδα ελέγχου), μετρήθηκαν τα τελικά προϊόντα της λιπιδιακής υπεροξειδωσης, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος, τα ηπατικά ένζυμα και τα επίπεδα ουρικού οξέος σε διαφορετικές χρονικές στιγμές.



Ε. ΥΛΙΚΟ

Μελετήθηκαν 2 ομάδες ασθενών. Η πρώτη ομάδα (30 ασθενείς) περιλάμβανε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή. Η δεύτερη ομάδα (20 ασθενείς) περιλάμβανε άτομα που υποβλήθηκαν σε ανοιχτή χολοκυστεκτομή και χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου.

Το πρωτόκολο της μελέτης εγκρίθηκε από την επιστημονική επιτροπή, την επιτροπή έρευνας και δεοντολογίας και οι ασθενείς έδωσαν τη συγκατάθεσή τους για να συμπεριληφθούν στην μελέτη. Ασθενείς με οξεία χολοκυστίτιδα, χοληδοχολιθίαση ή παγκρεατίτιδα αποκλείστηκαν από την μελέτη. Όλοι οι ασθενείς ήταν κατηγορίας ASA I και II σύμφωνα με τα κριτήρια της αμερικανικής αναισθησιολογικής εταιρίας. Το υλικό συλλέχθηκε από την Χειρουργική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων και την Χειρουργική Κλινική του Περιφερειακού Γενικού Νοσοκομείου <<Γ. Χατζηκώστα>>. Στον πίνακα 1 φαίνονται τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά της πρώτης και δεύτερης ομάδας.

Από όλους τους ασθενείς ελήφθη προεγχειρητικά αναλυτικό ιστορικό, ώστε ασθενείς που είχαν χρησιμοποιήσει πρόσφατα αντιοξειδωτικές ουσίες, όπως ασκορβικό οξύ ή α-τοκοφερόλη, αποκλείστηκαν από την μελέτη. Όλοι οι ασθενείς που μελετήθηκαν είχαν στον προεγχειρητικό έλεγχο φυσιολογικές αιματολογικές και βιοχημικές παραμέτρους. Για την εισαγωγή και τη διατήρηση της αναισθησίας χρησιμοποιήθηκαν φάρμακα τα οποία σύμφωνα με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας δεν είχαν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Η εισαγωγή στην αναισθησία έγινε με ετομιδάτη 0,2 mg/kg βάρους σώματος (Β.Σ) και σουξαμεθόνιο 1 mg/kg Β. Σ. Ακολούθως έγινε στοματο-τραχειακή διασωλήνωση και διατήρηση της αναισθησίας με 66 % οξείδιο του αζώτου και 1% ισοφλουράνιο. Φαιτανύλη και βενοκουρόνιο χορηγούνταν όταν χρειαζόταν.



ΣΤ. ΜΕΘΟΔΟΙ

6.1. Μέτρηση προϊόντων λιπιδιακής υπεροξειδωσης

Προϊόντα λιπιδιακής υπεροξειδωσης προσδιορίστηκαν μέσω της μέτρησης ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS). Για το σκοπό αυτό αίμα ελήφθη από το επιπολής φλεβικό δίκτυο των άνω άκρων προεγχειρητικά, 5 λεπτά μετεγχειρητικά και 24 ώρες μετά το πέρας της επέμβασης. Το αίμα τοποθετούνταν σε δοκιμαστικούς σωλήνες που περιείχαν ως αντιπηκτικό την ουσία εθυλεν-διαμινο-τετραοξικό οξύ (EDTA). Το αίμα υφίστατο φυγοκέντρηση στις 3100 στροφές ανά λεπτό, για 10 λεπτά στη συνέχεια γινόταν συλλογή του πλάσματος σε δοκιμαστικούς σωλήνες και αποθηκευόταν στους -90°C για μέγιστο χρονικό διάστημα 15 ημερών. Η προσθήκη αντιοξειδωτικού δεν κρίθηκε αναγκαία, καθότι λιπιδιακή υπεροξειδωση δεν λαμβάνει χώρα σε δείγματα που αποθηκεύονται για χρονικό διάστημα 15 ημερών σε θερμοκρασία -90°C (αδημοσίευτα στοιχεία του εργαστηρίου μας). Η ανίχνευση των TBARS έγινε με την μέθοδο που περιγράφηκε από τους Ohkawa και συνεργάτες (184).

6.1.1 Προσδιορισμός των TBARS

Αρχή της μεθόδου

Οι καρβονυλικές ενώσεις συμπλέκονται και αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ δίνοντας έγχρωμο προϊόν, το οποίο προσδιορίζεται φωτομετρικά στα 532 nm.

Αντιδραστήρια – Όργανα

Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA)

Τριχλωροξικό οξύ (TCA) (M.B.: 163.39 g/mol, Sigma)

Θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA) ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$, M.B: 162.20 g/mol, Serva)

Μηλονική διαλδεΰδη (MDA) (1,1,3,3-tetramethoxy propane, M.B.: 164.20 g/mol, d: 0.997 g/ml, Aldrich).

Βουτανόλη

Γυάλινα σωληνάκια

Φυγόκεντρος πάγκου (Hermle, Z 320).



Φασματοφωτόμετρο

Διαλύματα εργασίας

Διάλυμα 50% TCA: 50g TCA διαλυτοποιούνται σε 100 ml H₂O. Το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.

Διάλυμα 0.67% TBA: 0.67 g TBA διαλυτοποιούνται σε 100 ml διαλύματος NaOH συγκέντρωσης 0.05 mol/l. Το TBA είναι ευαίσθητο στον αέρα γι' αυτό μετά από κάθε χρήση και πριν από την αποθήκευσή του, αφαιρείται όλος ο αέρας από το μπουκάλι με ρεύμα N₂. Το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.

Διάλυμα 6 mM MDA: Μέρος του πυκνού διαλύματος MDA αραιώνεται 1000 φορές με την προσθήκη H₂O, δίνοντας διάλυμα 6 mM MDA. Το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.

Πρότυπο διάλυμα 200 μM MDA: 30 μl διαλύματος MDA 6 μmol/ml προσθέτονται σε 870 μl H₂O δίνοντας διάλυμα 200 μM MDA. Το διάλυμα αυτό παρασκευάζεται λίγο πριν τη χρήση του.

Πειραματική διαδικασία

Προετοιμασία των δειγμάτων

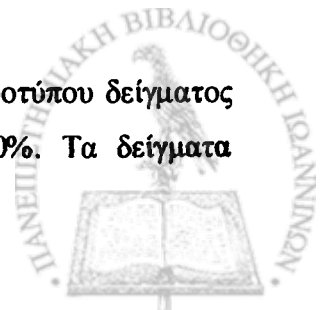
Αίμα συλλέγεται σε πλαστικά σωληνάκια τα οποία περιέχουν EDTA 10% ως αντιπηκτικό. Η συλλογή του πλάσματος γίνεται μετά από φυγοκέντρηση σε φυγόκεντρο πάγκου στις 3100 rpm (1500xg) για 10 λεπτά και στη συνέχεια τα δείγματα αποθηκεύονται στους -90° C για μέγιστο χρονικό διάστημα 15 ημερών.

Προετοιμασία των προτύπων

Σε 6 γυάλινα σωληνάκια προστίθενται 0, 5, 10, 15, 20 και 25 μl διαλύματος 200 μM MDA αντίστοιχα (0-5 nmol MDA αντίστοιχα). Ο όγκος των προτύπων συμπληρώνεται στα 500 μl με την προσθήκη H₂O. Στη συνέχεια, τα πρότυπα προετοιμάζονται με τον ίδιο ακριβώς τρόπο όπως και τα προς μέτρηση δείγματα.

Κατεργασία των δειγμάτων και των προτύπων

Σε κάθε σωληνάκι το οποίο περιέχει 500 μl πλάσματος ή προτύπου δείγματος προστίθενται 1 ml διαλύματος TBA 0.67% και 300 μl TCA 50%. Τα δείγματα



αναδεύονται ισχυρά και στη συνέχεια, σκεπάζονται καλά με αλουμινόχαρτο και τοποθετούνται σε υδατόλουτρο 75°C για 30 λεπτά ακριβώς. Αφού αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος προστίθενται στα σωληνάκια 1 ml βουτανόλης, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται 2 φάσεις. Ακολουθεί φυγοκέντρηση σε φυγόκεντρο πάγκου, στις 3100 rpm (1500xg) για 15 min, ώστε να καταβυθιστούν οι πρωτεΐνες που προκαλούν θόλωμα. Στη συνέχεια, αφαιρείται προσεκτικά από το υπερκείμενο κατάλληλη ποσότητα δείγματος, η οποία μεταφέρεται σε κυψελίδα φωτόμετρου. Γίνεται μέτρηση της απορρόφησης στα 532 nm.

Επεξεργασία των αποτελεσμάτων

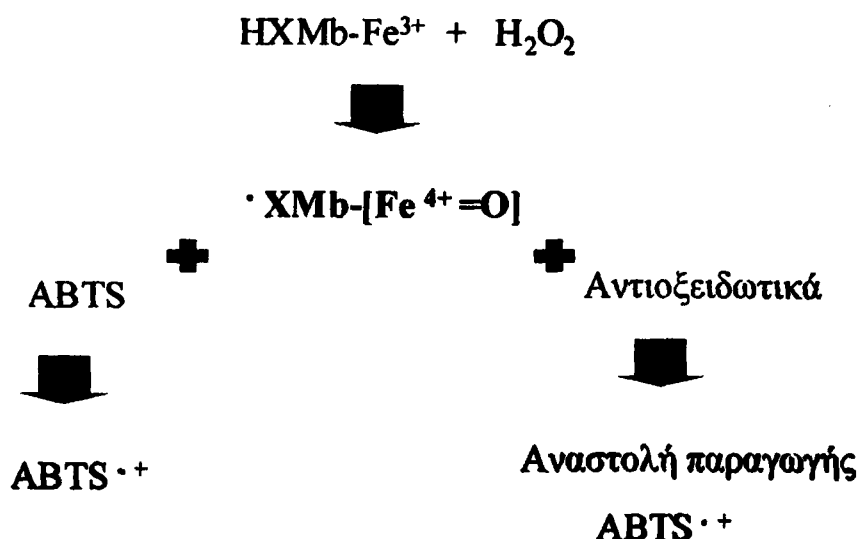
Με βάση τις απορροφήσεις των προτύπων δειγμάτων κάνουμε τη γραφική παράσταση $A=f(C)$ (όπου A =απορρόφηση των δειγμάτων και C = η συγκέντρωση των δειγμάτων σε MDA). Χαράζουμε τη βέλτιστη ευθεία που περνάει από τα σημεία και ταυτόχρονα υπολογίζουμε την εξίσωσή της. Από την εξίσωση της πρότυπης καμπύλης και από τις απορροφήσεις των δειγμάτων υπολογίζονται τα nmol των καρβονυλικών ενώσεων που περιέχουν τα δείγματα. Τα TBARS εκφράζονται ως ισοδύναμα nmol Μηλονικής Αλδεΐδης (MDA) / ml πλάσματος

6.2 Μέτρηση ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος

Αρχή της μεθόδου

Βασίζεται στην φασματοφωτομετρική μέτρηση της αναστολής της απορρόφησης της κατιονικής ρίζας 2,2' - αζινο-δι- [3-εθυλικήθειική βενζθειαζολίνη] ($ABTS^{\cdot+}$) από την προσθήκη αντιοξειδωτικών (185). Η κατιονική ρίζα $ABTS^{\cdot+}$ έχει χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης στα 600 nm. Η ρίζα $ABTS^{\cdot+}$ σχηματίζεται από αντίδραση της ουσίας ABTS με την ρίζα που έχει ως βάση την φερρλική μιοσφαιρίνη. Η ρίζα της φερρλικής μιοσφαιρίνης ($^{\cdot}XMb-[Fe^{4+}=O]$) σχηματίζεται από την ενεργοποίηση της μεμιοσφαιρίνης ($HX-Fe^{3+}$) από το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Στο σχήμα 1 απεικονίζεται η βασική αρχή της μεθόδου.



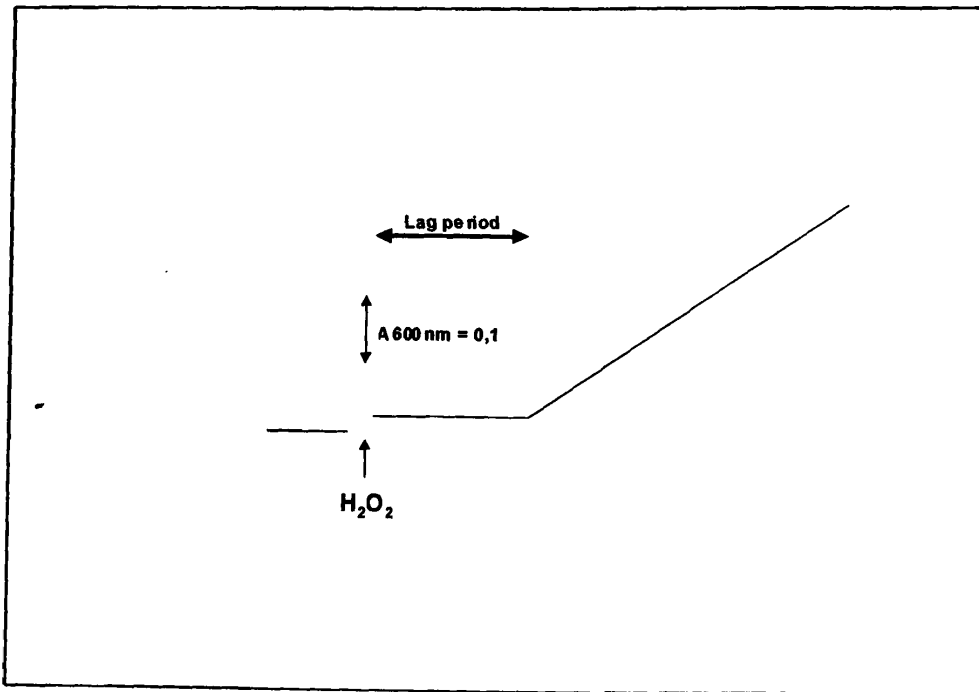


Σχήμα 1: Βασική αρχή της μεθόδου μέτρησης της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος

Η μέθοδος αυτή έγινε ευρέως γνωστή από την χημική εταιρία Randox (Εργαστήρια Randox, Crumlin, Ηνωμένο Βασίλειο), το Kit της οποίας χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη. Παρουσία αντιοξειδωτικών, η ανωτέρω αντίδραση αναστέλλεται ποσοτικά και χρονικά σε βαθμό ανάλογο με την δραστηριότητα του αντιοξειδωτικού. Η μείωση στην απορρόφηση στα 600 nm, στα 3 λεπτά, συγκρίνεται με αυτή του Trolox, που είναι το υδατοδιαλυτό ανάλογο της Βιταμίνης E και χρησιμοποιήθηκε ως το πρότυπο αντιοξειδωτικό. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ισοδύναμα mmol Trolox / L.



Για να πάρουμε πιο πολλές πληροφορίες η παραπάνω μεθοδολογία τροποποιήθηκε. Οι μεταβολές στην απορρόφηση στα 600 nm καταγραφόταν συνεχώς και η κινητική της αναστολής της αντίδρασης, παρουσία των ουσιών του πλάσματος, επίσης καταγραφόταν. Παρατηρήθηκε μία λανθάνουσα περίοδος (Lag period) της αντίδρασης, χωρίς καμμία αύξηση στην απορρόφηση, που ακολουθούνταν από μία περίοδο γραμμικής αύξησης. Η λανθάνουσα περίοδος ήταν χαρακτηριστική για κάθε ασθενή (σχήμα 2).



Σχήμα 2.

Διαλύματα εργασίας

- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, 5 mmol/l, pH 7,4
- Χρωμογόνο: Μετυνοσφαιρίνη 6,1 μmol/l και ABTS 610 μmol/l: διαλυτοποιούνται 10 ml χρωμογόνου με 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος. Το διάλυμα διατηρείται σταθερό στους 4 °C για 48 hrs.
- Υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂), 250 μmol/l: διαλυτοποιούνται 1 ml H₂O₂ με 1,5 ml ρυθμιστικού διαλύματος. Το διάλυμα διατηρείται σταθερό στους 4 °C για 24 hrs.
- Trolox, 1,6 mmol/l: διαλυτοποιούνται 1 ml Trolox με 1 ml δις-απεσταγμένο νερό. Το διάλυμα διατηρείται σταθερό στους 4 °C για 48 hrs ή στους -20 °C για ένα μήνα.

Πειραματική διαδικασία

Αρχικά παρασκευάζεται το δείγμα ελέγχου (τυφλό). Σε κυβέττα 1 cm διαπερατή στο φως, τοποθετούνται 20 μl δις-απεσταγμένου νερού και 1 ml χρωμογόνου. Μετά από καλή ανάδευση, η κυβέττα τοποθετείται στο φωτόμετρο, σε μήκος κύματος 600 nm και καταγράφεται η απορρόφηση (A₁). Στην συνέχεια προστίθενται στο διάλυμα 200 μl H₂O₂, γίνεται καλή ανάδευση και το διάλυμα τοποθετείται στο φωτόμετρο. Σε 3 λεπτά ακριβώς καταγράφεται η απορρόφηση (A₂). Ανάλογη διαδικασία ακολουθείται για την παρασκευή του προτύπου διαλύματος και του δείγματος (πλάσμα). Η διαφορά είναι ότι για την παρασκευή του προτύπου τοποθετούμε 20 μl Trolox και για την παρασκευή του δείγματος 20 μl πλάσματος αντί για δις-απεσταγμένο νερό.

Ταυτόχρονα, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, γίνεται συνεχής καταγραφή της κινητικής της αντίδρασης σε ειδικό χαρτί. Για τον υπολογισμό του λανθάνοντα χρόνου της αντίδρασης, μετράται το χρονικό διάστημα από τη στιγμή που βάζουμε το δείγμα στο φωτόμετρο, μέχρι την στιγμή που αρχίζει να μεταβάλλεται η απορρόφηση.

Επεξεργασία των αποτελεσμάτων

Υπολογίζουμε την διαφορά στην απορρόφηση (A₂-A₁) για το τυφλό διάλυμα, το πρότυπο και το δείγμα.



Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος προκύπτει από τον παρακάτω τύπο:

$$\text{Συγκέντρωση (mmol/l)} = 1,6 \cdot \frac{(\Delta A \text{ τυφλού} - \Delta A \text{ δείγματος})}{(\Delta A \text{ τυφλού} - \Delta A \text{ προτύπου})}$$

Όπου 1,6 είναι η συγκέντρωση του προτύπου σε mmol/l.

6.3 Μέτρηση επιπέδων ουρικού οξέος

Τα επίπεδα στον ορό του ουρικού οξέος (UA) προσδιορίστηκαν στο βιοχημικό εργαστήριο χρησιμοποιώντας έναν αυτόματο αναλυτή (Olympus system reagent, AU 600 application; Olympus Diagnostika GmbH, Lismeehan, O' Callaghan's Mills, Co. Clare, Ireland). Η αρχή της μεθόδου μέτρησης του UA βασίζεται στην αντίδραση με την Ουρικάση. Τα επίπεδα του UA μετρήθηκαν προεγχειρητικά, άμεσα μετεγχειρητικά και 24 ώρες μετά την επέμβαση.

6.4 Μέτρηση ηπατικών ενζύμων και χολερυθρίνης

Τα επίπεδα στον ορό της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST), της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) και της ολικής χολερυθρίνης (TBL), προσδιορίστηκαν στο βιοχημικό εργαστήριο χρησιμοποιώντας έναν αυτόματο αναλυτή (Olympus system reagent, AU 600 application; Olympus Diagnostika GmbH, Lismeehan, O' Callaghan's Mills, Co. Clare, Ireland). Για την μέτρηση των επιπέδων των AST, ALT και TBL, αίμα λήφθηκε προεγχειρητικά και 24 ώρες μετά την επέμβαση.



Ζ. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση έγινε με την βοήθεια του προγράμματος SPSS. Οι τιμές εκφράστηκαν ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση (mean \pm SD). Η κανονικότητα της κατανομής των τιμών εκτιμήθηκε με την δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Οι συγκρίσεις μεταξύ των τιμών των διαφόρων παραμέτρων εντός της πρώτης (ομάδα λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής) και εντός της δεύτερης ομάδας (ανοιχτή χολοκυστεκτομή) έγινε με το t-test (paired samples t-test). Η σύγκριση των διαφορών των παραμέτρων μεταξύ πρώτης και δεύτερης ομάδας έγινε με t-test (independent samples t-test).

Στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι διαφορές στις οποίες $p < 0,05$.



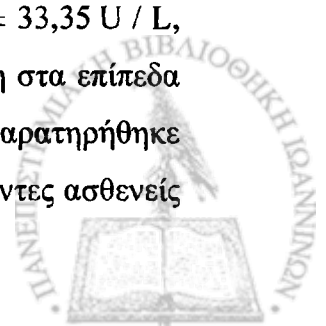
Η. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα χαρακτηριστικά των ασθενών φαίνονται στον πίνακα 1. Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων όσον αφορά την ηλικία, το φύλο και την διάρκεια της επέμβασης. Στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής η ενδοκοιλιακή πίεση ήταν της τάξης των 14 mm Hg κατά την διάρκεια των επεμβάσεων. Η συγκέντρωση των TBARS στο πλάσμα, ως δείκτης παραγωγής ελευθέρων ριζών, αυξήθηκε σημαντικά ($p < 0,0005$) κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο (5 λεπτά μετά την άρση του πνευμοπεριτοναίου) σε σύγκριση με τα προεγχειρητικά επίπεδα, στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή. Στις 24 ώρες μετά την επέμβαση, η συγκέντρωση των TBARS αυξήθηκε, αλλά όχι σημαντικά σε σχέση με τα προεγχειρητικά επίπεδα (Πίνακας 2, Σχήμα 1).

Οι τιμές της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος, στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή, είχαν μία μικρή, αλλά όχι σημαντική μείωση αμέσως μετά την άρση του πνευμοπεριτοναίου και μία στατιστικά σημαντική μείωση 24 ώρες μετεγχειρητικά, σε σχέση με τα προεγχειρητικά επίπεδα (Πίνακας 2, σχήμα 2). Η μέση προεγχειρητική τιμή της λανθάνουσας περιόδου αντίδρασης ήταν $30,4 \pm 10,5$ sec. Η λανθάνουσα περίοδος μειώθηκε ελαφρά κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο (6,9 %), και σημαντικά (25,3 %) κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα ($p < 0,005$), (Πίνακας 2).

Τα πρώιμα μετεγχειρητικά επίπεδα του UA ήταν στα ίδια επίπεδα με τα προεγχειρητικά επίπεδα. Κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα όμως παρατηρήθηκε σημαντική μείωση ($p < 0,005$) στα επίπεδα του UA, σε σύγκριση με τα προεγχειρητικά επίπεδα (Πίνακας 2, σχήμα 3).

Τα μέσα προεγχειρητικά επίπεδα της ALT ήταν $18,5 \pm 6,87$ U / L και αυξήθηκαν σημαντικά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα ($ALT = 43,8 \pm 47,3$ U / L, $p < 0,005$), (σχήμα 4). Τα μέσα προεγχειρητικά επίπεδα της AST ήταν $18,17 \pm 4,17$ U / L και αυξήθηκαν σημαντικά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα ($AST = 40,2 \pm 33,35$ U / L, $p < 0,005$), (σχήμα 4). Σε ένα ασθενή παρατηρήθηκε δεκαπλάσια αύξηση στα επίπεδα των AST και ALT κατά την μετεγχειρητική περίοδο, ενώ σ' έναν άλλο παρατηρήθηκε πενταπλάσια αύξηση. Παρόλη όμως την αύξηση, και οι δύο προαναφερθέντες ασθενείς



είχαν μία ομαλή μετεγχειρητική περίοδο. Τα επίπεδα της TBL επίσης αυξήθηκαν σημαντικά μετεγχειρητικά σε σχέση με τα προεγχειρητικά επίπεδα (προεγχειρητικές τιμές: $0,65 \pm 0,27$ U / L, μετεγχειρητικές τιμές: $1,03 \pm 0,77$ U / L, $p < 0,005$).

Στην ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής, τα επίπεδα των TBARS δεν αυξήθηκαν κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο σε σχέση με τα προεγχειρητικά επίπεδα (Πίνακας 2). Κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα παρουσίασαν μία ήπια αλλά όχι στατιστικά σημαντική αύξηση σε σύγκριση με τα προεγχειρητικά επίπεδα (Πίνακας 2, Σχήμα 5). Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος παρουσίασε μία σημαντική μείωση κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα ($p < 0,005$) (Πίνακας 2, Σχήμα 6). Η μέση προεγχειρητική τιμή του λανθάνοντα χρόνου αντίδρασης ήταν $34,6 \pm 12,05$ sec και μειώθηκε σημαντικά ($p < 0,005$) κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα (Πίνακας 2). Κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο, τα επίπεδα UA μειώθηκαν σημαντικά ($p < 0,05$) σε σύγκριση με τα προεγχειρητικά επίπεδα αυτή η μείωση ήταν πιο εμφανής κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα ($p < 0,005$) (Πίνακας 2). Τα επίπεδα των τρανσαμινασών και της ολικής χολερυθρίνης αυξήθηκαν σημαντικά ($p < 0,005$) μετεγχειρητικά. Πιο συγκεκριμένα η ALT αυξήθηκε από $20,6 \pm 9,3$ στα $33,16 \pm 14,5$ U / L, η AST από $18,1 \pm 4,2$ στα $32,6 \pm 9,42$ U / L, και η TBL αυξήθηκε από $0,87 \pm 0,29$ στα $1,06 \pm 0,39$ U / L.

Εαν συγκρίνουμε τις διαφορές στις μέσες τιμές της κάθε παραμέτρου μεταξύ της ομάδας της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής και της ανοιχτής χολοκυστεκτομής, παρατηρούμε ότι κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο η μέση διαφορά στα επίπεδα των TBARS, σε σχέση με τα προεγχειρητικά επίπεδα, στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής, ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σύγκριση με την αντίστοιχη στην ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής ($p < 0,005$). Οι μέσες διαφορές στα επίπεδα της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος και στα επίπεδα του UA μεταξύ πρώτης μετεγχειρητικής ημέρας και προεγχειρητικής περιόδου ήταν μεγαλύτερες στην ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής ($p < 0,005$). Όσον αφορά την ηπατική λειτουργία, αν και η αύξηση στα επίπεδα των TBL, ALT και AST ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής σε σχέση με την ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής, αυτή η διαφορά δεν ήταν σημαντική εξαιτίας των υψηλών τυπικών αποκλίσεων. Εάν όμως εξαιρέσουμε τις ακραίες περιπτώσεις, παρατηρούμε ότι η αύξηση στα επίπεδα της ALT ήταν σημαντικά υψηλότερη ($p < 0,005$) στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής (Σχήμα 7).



Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά ασθενών πρώτης και δεύτερης ομάδας

Παράμετροι	Ομάδα ΛΧ (n=30)	Ομάδα ΑΧ (n=20)
Ηλικία (έτη)	54,6 ± 16	58,3 ± 10
Αναλογία φύλου (Άνδρες/Γυναίκες)	12 / 18	9 / 11
Ενεργοί καπνιστές (> 10 τσιγάρα / ημέρα)	10	7
Λευκοκύτταρα (k / μl)	6,55 ± 0,79	6,93 ± 0,88
Πολυμορφοπύρηνα (%)	56,3 ± 7,8	59,8 ± 10,6
Διάρκεια επέμβασης (min)	47,3 ± 20,8	57,3 ± 17,5

ΛΧ: λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή,

ΑΧ: ανοιχτή χολοκυστεκτομή.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.



Πίνακας 2. Προεγχειρητικές και μετεγχειρητικές τιμές ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, λανθάνουσας περιόδου αντίδρασης και ουρικού οξέος

Παράμετροι	<u>Ομάδα ΔΧ</u>			<u>Ομάδα ΑΧ</u>		
	Προεγχ	5 min μετεγχ	24 hrs μετεγχ	Προεγχ	5 min μετεγχ	24 hrs μετεγχ
TBARS (nmol/ml)	1,85±0,46	2,17±0,49 ^β	1,99±0,50	1,99±0,24	1,96±0,46	2,05±0,51
TAS (mmol/l)	1,04±0,15	1,02±0,21	0,96±0,14 ^α	1,12±0,22	1,04±0,21	0,93±0,19 ^β
Lag period (%)	100	93,1±12,40	74,7±18,2 ^β	100	96,8±6,2	77,4±17,50 ^β
UA (mg/dl)	4,80±1,92	4,66±1,75	4,12±1,83 ^β	5,70±1,81	5,2±1,56 ^α	4,20±1,39 ^β

ΔΧ: λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή,

ΑΧ: ανοιχτή χολοκυστεκτομή,

Προεγχ: προεγχειρητικά,

μετεγχ: μετεγχειρητικά,

TBARS: ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ,

TAS: ολική αντιοξειδωτική ικανότητα,

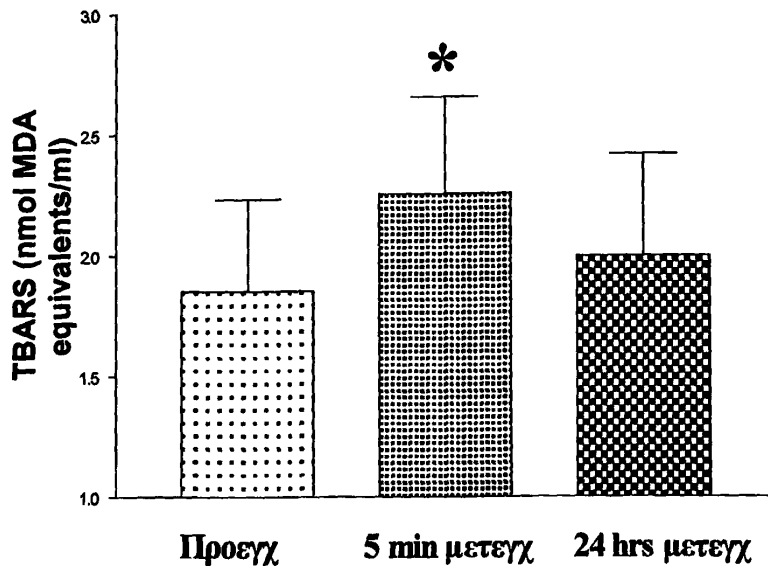
Lag period: λανθάνουσα περίοδος αντίδρασης,

UA: ουρικό οξύ.

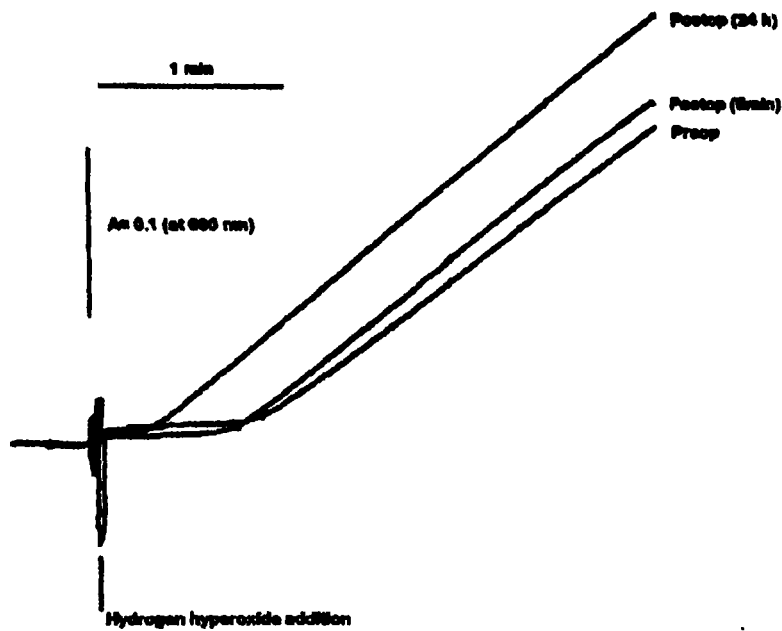
Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση,

^αp < 0,05, ^βp < 0,005.

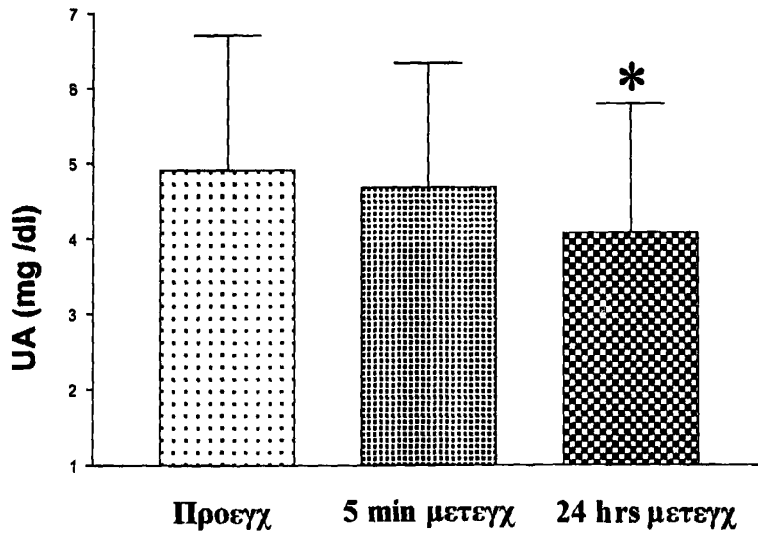




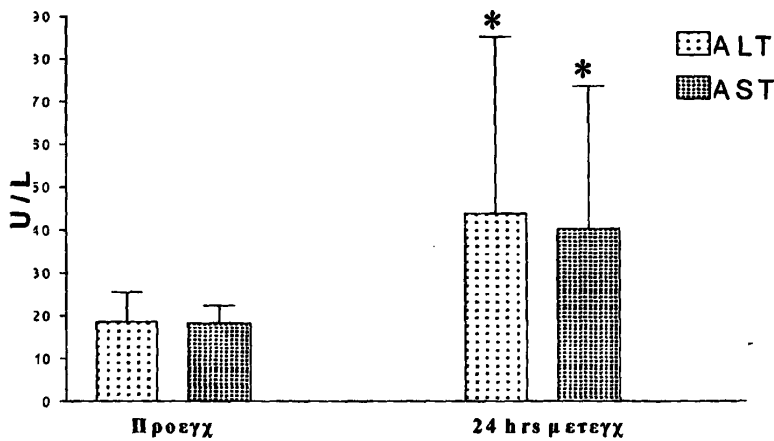
Σχήμα 1. Μεταβολές στο πλάσμα ασθενών στα επίπεδα προϊόντων λιπιδιακής υπεροξειδωσης (TBARS) κατά την διάρκεια λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής. Παρατηρείται σημαντική αύξηση (* $p < 0,0005$) κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο, 5 λεπτά μετά την άρση του πνευμοπεριτοναίου.



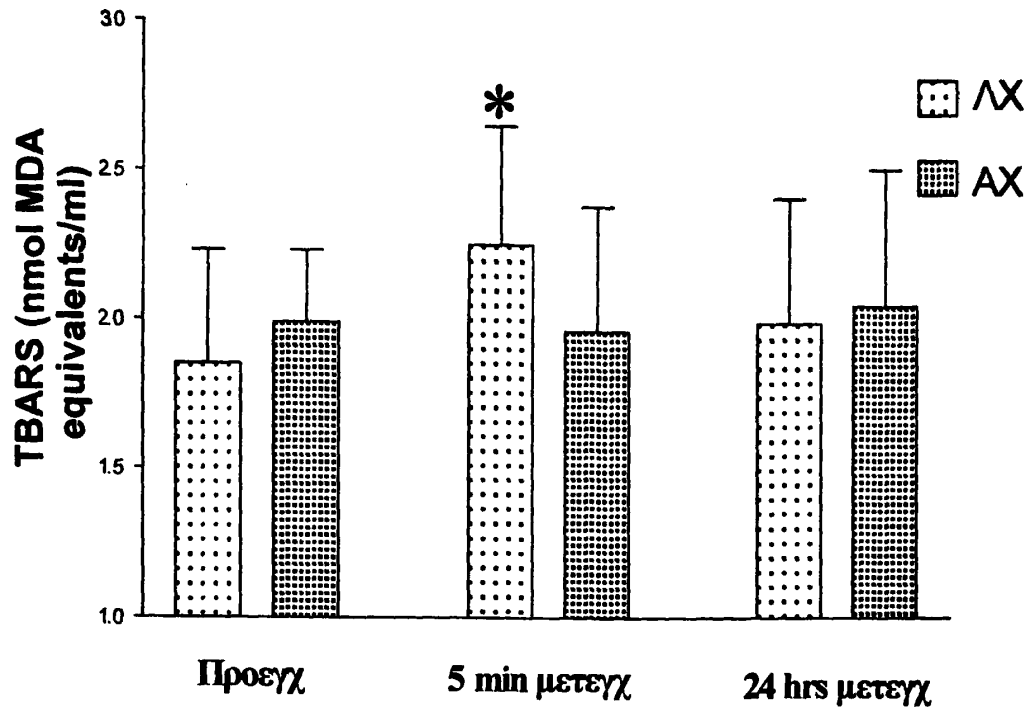
Σχήμα 2. Αντιπροσωπευτική καμπύλη των μεταβολών στην απορρόφηση στα 600 nm, που είναι ενδεικτική του σχηματισμού ABTS, σε ασθενή που υποβάλλεται σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) προστίθεται στο χρονικό σημείο που δείχνει το βέλος. Αρχικά καταγράφεται μία λανθάνουσα περίοδος, όπου δεν υπάρχει καμμία αύξηση στην απορρόφηση. Η περίοδος αυτή ακολουθείται από μία άλλη, όπου υπάρχει γραμμική αύξηση στην απορρόφηση. Απεικονίζονται οι διαφορές μεταξύ της προεγχειρητικής (Preop) και των μετεγχειρητικών (Postop) περιόδων στη λανθάνουσα περίοδο και στην απορρόφηση.



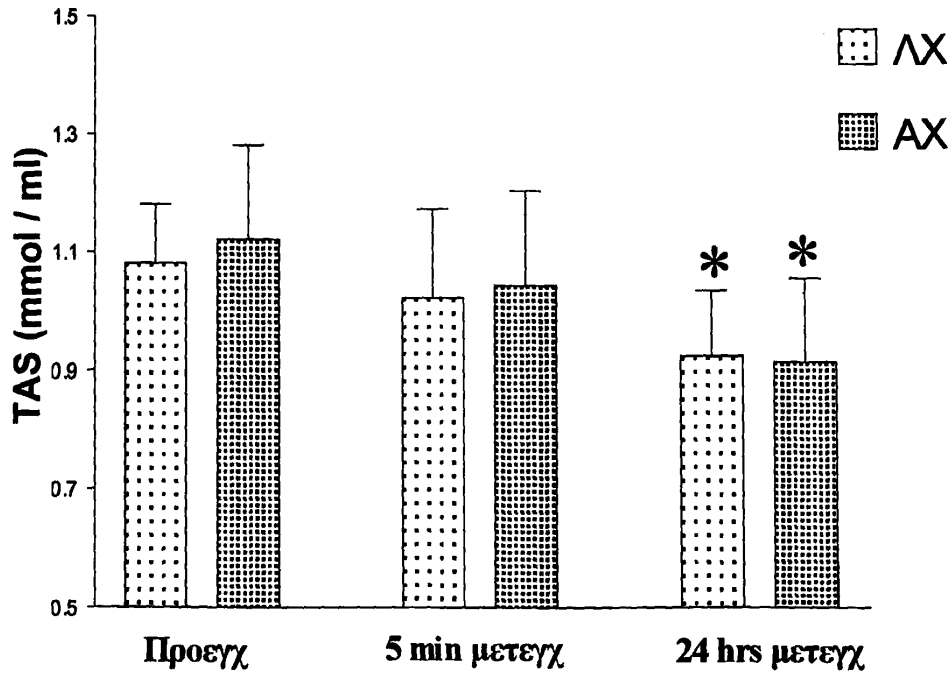
Σχήμα 3. Μεταβολές στα επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό ασθενών που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή. Παρατηρείται σημαντική πτώση (* $p < 0,005$) κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα.



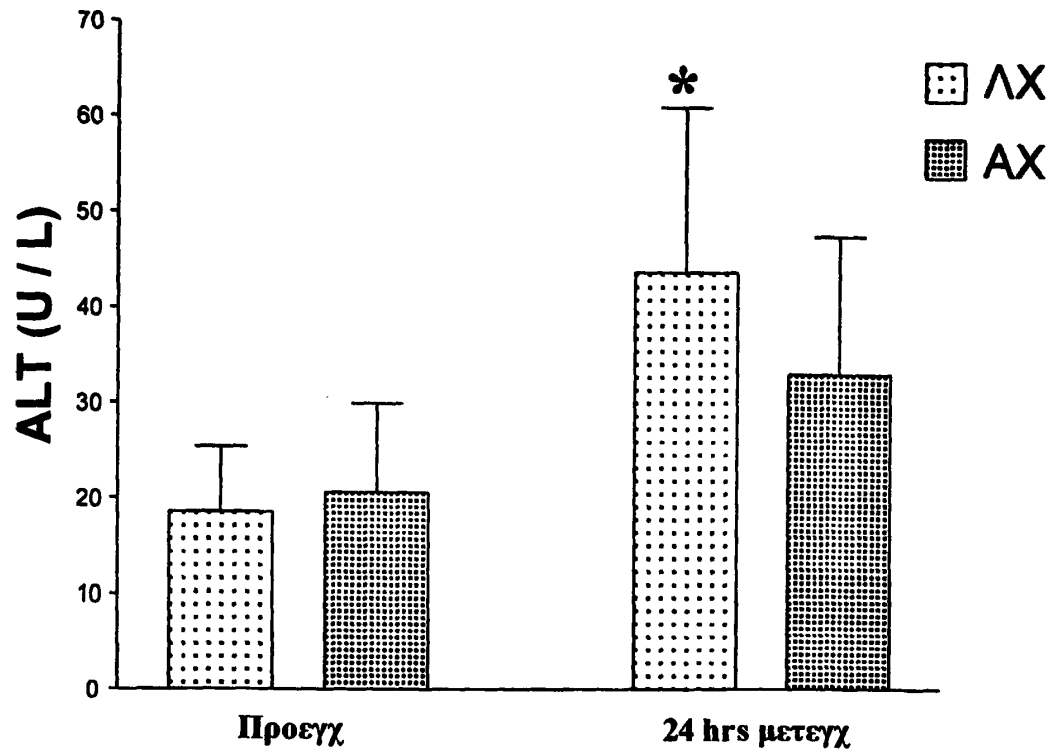
Σχήμα 4. Μεταβολές στα επίπεδα τρανσαμινασών στον ορό ασθενών που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή. Παρατηρείται σημαντική αύξηση κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα (* $p < 0,005$).



Σχήμα 5. Προεγχειρητικές (προεγχ) και μετεγχειρητικές (μετεγχ) τιμές των TBARS στο πλάσμα ασθενών που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή (LX) και ανοιχτή χολοκυστεκτομή (AX). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση, * $p < 0,005$, σε σύγκριση με τα προεγχειρητικά επίπεδα στην ομάδα της LX.



Σχήμα 6. Προεγχειρητικές και μετεγχειρητικές τιμές της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο πλάσμα ασθενών που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπική (ΛX) και ανοιχτή χολοκυστεκτομή (AX). Παρατηρείται σημαντική μείωση (* $p < 0,05$) της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα και στις δύο ομάδες ασθενών.



Σχήμα 7. Προεγχειρητικές και μετεγχειρητικές τιμές της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) σε ασθενείς που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπική (ΛΧ) και ανοιχτή χολοκυστεκτομή (ΑΧ). Αν εξαιρεθούν οι ακραίες τιμές και στις δύο ομάδες ασθενών, η αύξηση είναι σημαντικά μεγαλύτερη (* $p < 0,005$) στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής.

Θ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η λαπαροσκόπηση χρησιμοποιήθηκε από τους γυναικολόγους για διαγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς, επί σειρά ετών. Σε αντίθεση, οι γενικοί χειρουργοί αγνόησαν αυτή την πρακτική μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 1980. Έκτοτε, ο μέχρι τότε συντηρητισμός μετατράπηκε σε άκρατο ενθουσιασμό για την εφαρμογή της λαπαροσκοπικής χειρουργικής σε κάθε πεδίο της χειρουργικής, και οι ενδείξεις για λαπαροσκοπικές επεμβάσεις αυξάνονταν ταχέως. Για πρώτη ίσως φορά στην ιστορία της χειρουργικής, οι αρχικές αντενδείξεις για την εκτέλεση λαπαροσκοπικών επεμβάσεων σε συγκεκριμένες ομάδες ασθενών ή σε συγκεκριμένες νόσους, αναιρέθηκαν σε τόσο σύντομο χρονικό διάστημα.

Είναι γεγονός ότι η λαπαροσκοπική χειρουργική έχει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με την ανοιχτή χειρουργική, τα οποία έχουν τεκμηριωθεί και δημοσιευτεί σε μεγάλο αριθμό μελετών. Τα κυριότερα από αυτά είναι: λιγότερο μετεγχειρητικό άλγος, μικρότερη μετεγχειρητική νοσηλεία, ταχύτερη επάνοδο στην φυσιολογική δραστηριότητα και καλύτερο αισθητικό αποτέλεσμα.

Για την εκτέλεση όμως λαπαροσκοπικών επεμβάσεων είναι απαραίτητη η δημιουργία πνευμοπεριτοναίου με την εισαγωγή CO₂ στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Η παθοφυσιολογία του πνευμοπεριτοναίου είναι πολύπλοκη και, όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή, μπορεί να έχει σημαντικές επιδράσεις τόσο στην σπλαχνική αιμάτωση, όσο και στην λειτουργία απομακρυσμένων οργάνων. Ο ενθουσιασμός για την εφαρμογή της λαπαροσκοπικής χειρουργικής σε μεγάλο φάσμα χειρουργικών επεμβάσεων και σε διαφορετικές ομάδες ασθενών, είχε ως αποτέλεσμα την ευρεία εκτέλεση λαπαροσκοπικών επεμβάσεων χωρίς να έχει προηγηθεί εκτεταμένη μελέτη της παθοφυσιολογίας του πνευμοπεριτοναίου και των πιθανών επιπτώσεων του. Η εκτεταμένη μελέτη και η πλήρης αποσαφήνιση της παθοφυσιολογίας του πνευμοπεριτοναίου σε μοριακό, βιοχημικό και κλινικό επίπεδο, είναι απαραίτητη για την ασφαλή εφαρμογή της λαπαροσκοπικής χειρουργικής και την αποκρυστάλλωση των ενδείξεων της.

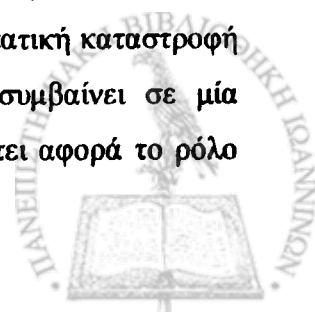
Η παρούσα μελέτη προσπάθησε να συνεισφέρει κάποιες πληροφορίες στο ανωτέρω πεδίο.



Η εισαγωγή πνευμοπεριτοναίου αυξάνει την ενδοκοιλιακή πίεση σε επίπεδα 10-15 mm Hg, τα οποία είναι υψηλότερα από την φυσιολογική πίεση στην πυλαία φλέβα (7-10 mm Hg). Έχει δειχθεί ότι ενδοκοιλιακή πίεση της τάξης των 15-20 mm Hg προκαλεί σπλαχνική ισχαιμία άμεσα, ανεξάρτητα από τις μεταβολές στην καρδιακή παροχή (31). Προηγούμενες κλινικές μελέτες (39;181) έδειξαν ότι το πνευμοπεριτόναιο προκαλεί σημαντική μείωση στην γαστρεντερική και ηπατική μικροκυκλοφορία. Τα κύρια αίτια αυτής της σπλαχνικής ισχαιμίας είναι η απευθείας μηχανική συμπίεση των ενδοκοιλιακών αγγείων, η απελευθέρωση αγγειοδραστικών ορμονών (όπως η βασοπρεσσίνη) και η υπερκαπνία (186;187). Η άρση του πνευμοπεριτοναίου μειώνει την ενδοκοιλιακή πίεση και αυξάνει την σπλαχνική αιμάτωση. Για τους λόγους αυτούς η λαπαροσκοπική χειρουργική φαίνεται να αντιπροσωπεύει ένα μοντέλο χαμηλής ροής ισχαιμίας – επαναιμάτωσης.

Είναι γνωστό ότι η δημιουργία ελευθέρων ριζών σε συνθήκες ισχαιμίας – επαναιμάτωσης είναι από τους κύριους μεσολαβητές για την πρόκληση ιστικής βλάβης (188). Η αθρόα παραγωγή ελευθέρων ριζών οδηγεί σε κινητοποίηση του αντιοξειδωτικού συστήματος του οργανισμού. Η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ οξειδωτικών – αντιοξειδωτικών παραγόντων οδηγεί σε συνθήκες οξειδωτικού stress. Στην παρούσα μελέτη ως δείκτες οξειδωτικού stress χρησιμοποιήθηκαν η λιπιδιακή υπεροξείδωση (184) και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος (185).

Οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα των κυτταρικών μεμβρανών και προκαλούν ιστική βλάβη. Η θεωρία αυτή έχει μελετηθεί ευρέως in vitro (189). Ο ρόλος της λιπιδιακής υπεροξείδωσης in vivo στηρίζεται κυρίως σε δύο διαπιστώσεις: α) αύξηση στα προϊόντα λιπιδιακής υπεροξείδωσης μετά από συνθήκες ισχαιμίας – επαναιμάτωσης και β) προστατευτική δράση των αντιοξειδωτικών σε συνδυασμό με μειωμένη λιπιδιακή υπεροξείδωση (174). Εντούτοις κάνοντας ποσοτικές συγκρίσεις φαίνεται ότι η βαρύτητα της λιπιδιακής υπεροξείδωσης κατά την διάρκεια ιστικής βλάβης από φλεγμονή in vivo δεν είναι αρκετή για να προκαλέσει απευθείας σημαντική κυτταρική καταστροφή (190). Για να συμβεί εκλεκτική νέκρωση των ηπατοκυττάρων από λιπιδιακή υπεροξείδωση, είναι απαραίτητος ένας συνδυασμός συνθηκών οξειδωτικού stress, κινητοποίησης σιδήρου και κατανάλωσης κυτταρικών αντιοξειδωτικών (190;191). Εάν υπάρξουν όλες αυτές οι συνθήκες μαζί τότε λαμβάνει χώρα συνολική υπεροξείδωση των λιπιδίων που οδηγεί σε μαζική ηπατική καταστροφή σε 1-2 ώρες (191). Αυτός ο συνδυασμός όμως πολύ σπάνια συμβαίνει σε μία ρεαλιστική παθοφυσιολογική κατάσταση. Το ερώτημα που ανακύπτει αφορά το ρόλο

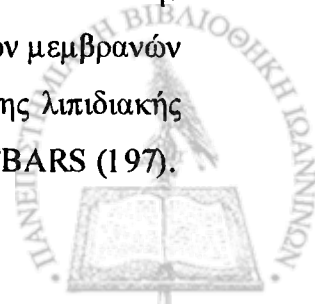


της λιπιδιακής υπεροξειδωσης σε καταστάσεις φλεγμονής. Έχει αναφερθεί ότι προϊόντα λιπιδιακής υπεροξειδωσης είναι δυνητικοί χημειοτακτικοί παράγοντες για τα ουδετερόφιλα και μπορούν να τροποποιήσουν τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών (192). Προϊόντα λιπιδιακής υπεροξειδωσης μπορούν επίσης να εμπλέκονται στην παραγωγή κυτταροκινών (193). Αυτά τα ευρήματα ίσως εξηγούν τις παρατηρήσεις ότι μετά από την αρχική παραγωγή μεσολαβητών της φλεγμονής, η λιπιδιακή υπεροξειδωση είναι ο καθοριστικός παράγοντας για την συνέχιση της προσέλκυσης ουδετερόφιλων και της επίτασης της ιστικής βλάβης (194).

Προκύπτει λοιπόν ότι τα προϊόντα της λιπιδιακής υπεροξειδωσης φαίνεται να έχουν διπλό ρόλο. Είναι δείκτες οξειδωτικού stress και παράλληλα σημαντικά μόρια μεταγωγής μηνύματος.

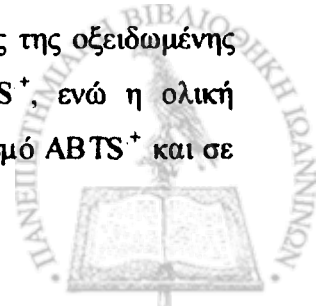
Τα θηλαστικά έχουν αναπτύξει σύνθετες αντιοξειδωτικές στρατηγικές, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιούν το οξυγόνο και να ελαχιστοποιούν τις επιβλαβείς επιπτώσεις από τις δραστικές μορφές οξυγόνου (102). Τα ενδοκυττάρια αντιοξειδωτικά, τα αντιοξειδωτικά των κυτταρικών μεμβρανών και του εξωκυττάριου χώρου, κίνητοποιούνται για να εξουδετερώσουν την αθρόα παραγωγή ελευθέρων ριζών. Το αίμα συμβάλλει καθοριστικά στην διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας σε συνθήκες οξειδωτικού stress, γιατί μεταφέρει και κατανέμει τα αντιοξειδωτικά σε κάθε σημείο του οργανισμού. Η συνεργασία μεταξύ διαφορετικών αντιοξειδωτικών παρέχει μεγαλύτερη προστασία έναντι στα οξειδωτικά από ό,τι το κάθε αντιοξειδωτικό από μόνο του. Για παράδειγμα, η γλουταθειόνη συμμετέχει στην ανασύνθεση του ασκορβικού οξέος (195) και το ασκορβικό οξύ στην ανασύνθεση της ατοκοφερόλης (196). Για το λόγο αυτό, η χρήση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας δίνει περισσότερες βιολογικά σχετικές πληροφορίες, από αυτές που θα παίρναμε από την μέτρηση αντιοξειδωτικών χωριστά.

Στην παρούσα μελέτη, παρατηρήθηκε μία σημαντική αύξηση στα επίπεδα των TBARS 5 λεπτά μετά την άρση του πνευμοπεριτοναίου, στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή. Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας διαφαίνεται ότι είναι η πρώτη φορά που έχει γίνει μία τέτοια παρατήρηση σε κλινική μελέτη, στη λαπαροσκοπική χειρουργική. Αυτό το εύρημα είναι σε άμεση συνάφεια με την υπόθεση ότι ελεύθερες ρίζες που παράγονται κατά την πρώιμη φάση της επαναιμάτωσης, αντιδρούν με τα λιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών και του πλάσματος και προξενούν βλάβη αυτών μέσω της διαδικασίας της λιπιδιακής υπεροξειδωσης. Τελικά προϊόντα της λιπιδιακής υπεροξειδωσης είναι τα TBARS (197).



Κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα, τα επίπεδα των TBARS σημείωσαν μία μικρή, αλλά όχι σημαντική αύξηση σε σχέση με τα προεγχειρητικά επίπεδα. Αυτό το εύρημα δείχνει ότι η λιπιδιακή υπεροξειδωση στην λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή, λαμβάνει χώρα αμέσως μετά την επαναιμάτωση. Αυτό το αποτέλεσμα εξηγείται από το γεγονός ότι κατά την αρχική φάση της επαναιμάτωσης παρατηρείται ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer (92) και μετατροπή της υποξανθίνης σε ξανθίνη, από την οξειδάση της ξανθίνης (153). Αμφότερες οι καταστάσεις οδηγούν σε παραγωγή ελευθέρων ριζών. Το εύρημά μας ότι τα TBARS δεν αυξήθηκαν κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο στην ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής, μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι κατά την διάρκεια μιας ανοιχτής χολοκυστεκτομής δεν λαμβάνουν χώρα φαινόμενα ισχαιμίας – επαναιμάτωσης. Σε μία άλλη κλινική μελέτη βρέθηκε ότι τα επίπεδα των TBARS στο πλάσμα ασθενών, μειώθηκαν κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα στην ομάδα των ασθενών, που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή, και αυξήθηκαν στην ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής (198).

Εαν, σύμφωνα με την υπόθεσή μας, ελεύθερες ρίζες παράγονται κατά την διάρκεια λαπαροσκοπικών επεμβάσεων και είναι ικανές να προσβάλλουν τα λιπίδια, τότε, είναι πολύ πιθανό ότι μπορούν επίσης να αντιδρούν με τις μικρού μοριακού βάρους αντιοξειδωτικές ουσίες του πλάσματος. Αυτό θα είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο πλάσμα. Στην παρούσα μελέτη, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής, είχε μία μικρή μείωση 5 λεπτά μετά την επέμβαση και, στη συνέχεια, μια περαιτέρω σημαντική μείωση κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα. Κατά τη μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, έγινε αντιληπτό ότι η κινητική της αντίδρασης κατά την καταγραφή της απορρόφησης δεν ήταν γραμμική. Μία λανθάνουσα περίοδος αντίδρασης, όπου δεν γινόταν καμία αύξηση στην απορρόφηση, παρατηρήθηκε αρχικά σε όλες τις περιπτώσεις. Η λανθάνουσα αυτή περίοδος ακολουθείται από μία περίοδο γραμμικής αύξησης της απορρόφησης. Αυτή η λανθάνουσα περίοδος παρατηρήθηκε σε όλους τους ασθενείς· το εύρος της όμως ήταν διαφορετικό από ασθενή σε ασθενή. Αυτό το φαινόμενο σχετίζεται ίσως με τις πολύπλοκες διαδοχικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα μεταξύ του H_2O_2 με την μυσφαιρίνη, αντιδράσεις στις οποίες στηρίζεται η συγκεκριμένη μέθοδος (199-201). Είναι λογικό να συμπεράνουμε ότι τα αντιοξειδωτικά που είναι παρόντα στο πλάσμα αντιδρούν με τις ενδιάμεσες μορφές της οξειδωμένης μυσφαιρίνης και αναστέλλουν τον σχηματισμό της ρίζας $ABTS^+$, ενώ η ολική οξειδωση των αντιοξειδωτικών του πλάσματος οδηγεί στον σχηματισμό $ABTS^+$ και σε



μεταβολές στην καταγραφόμενη απορρόφηση. Με βάση τα αποτελέσματά μας, θεωρούμε την λανθάνουσα περίοδο αντίδρασης ως ένα καλό δείκτη της αντιοξειδωτικής δράσης του πλάσματος.

Στην ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής παρατηρήθηκε μία σημαντική μείωση στα επίπεδα της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα. Αυτή η μείωση ήταν μεγαλύτερη από αυτή που παρατηρήθηκε στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής. Μία πιθανή εξήγηση για αυτό το εύρημα είναι ότι στην ανοιχτή χολοκυστεκτομή, το χειρουργικό τραύμα και το χειρουργικό stress είναι μεγαλύτερο (202;203), και αυτές οι παράμετροι κινητοποιούν το αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού.

Πρέπει να έχουμε υπόψη μας πως η φυσιολογία της λαπαροσκόπησης είναι διαφορετική από την φυσιολογία του πνευμοπεριτοναίου. Είναι γεγονός πως μία λαπαροσκοπική επέμβαση προκαλεί σημαντικά μικρότερο χειρουργικό τραύμα σε σχέση με μία ανοιχτή επέμβαση. Έχει βρεθεί ότι η έκταση του χειρουργικού τραύματος είναι απευθείας ανάλογη με τον βαθμό της μετεγχειρητικής φλεγμονώδους αντίδρασης και της συστηματικής ανοσοκαταστολής (204). Η εισαγωγή πνευμοπεριτοναίου από την άλλη πλευρά είναι ένας πειστικός παράγοντας για τον οργανισμό, ο οποίος δεν υφίσταται στην ανοιχτή χειρουργική. Στην συγκεκριμένη μελέτη το διεγχειρητικό stress από την εισαγωγή του πνευμοπεριτοναίου εκφράστηκε με την άνοδο των προϊόντων λιπιδιακής υπεροξειδωσης, αμέσως μετά την επέμβαση, στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής. Αν κάνουμε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για τις διαφορές μεταξύ λαπαροσκοπικής και ανοιχτής χειρουργικής, σε βιοχημικές ή κλινικές παραμέτρους, προκύπτει ότι η λαπαροσκοπική χειρουργική είναι πιο στρεσογόνα διεγχειρητικά, ενώ η ανοιχτή χειρουργική προκαλεί μεγαλύτερο stress κατά την μετεγχειρητική περίοδο. Πιο συγκεκριμένα, εάν θεωρήσουμε τον μεταβολισμό της γλυκόζης ως την τελική οδό της νευροενδοκρινικής απάντησης στο τραύμα, τα αποτελέσματα μελέτης (205) δείχνουν ότι τα επίπεδα γλυκόζης αυξάνουν σημαντικά, άμεσα μετεγχειρητικά σε σύγκριση με την ανοιχτή τεχνική. Και αν μελετήσουμε τη χρονική εμφάνιση της θρομβοεμβολικής νόσου, μετά από επεμβάσεις, φαίνεται ότι στις λαπαροσκοπικές επεμβάσεις θρομβοεμβολικά φαινόμενα λαμβάνουν χώρα νωρίτερα σε σχέση με τις ανοιχτές επεμβάσεις (3^η-5^η μετεγχειρητική μέρα έναντι 10^{ης}-14^{ης} ημέρας) (206). Αυτό είναι μία ένδειξη ότι το κύριο αίτιο πρόκλησης θρομβοεμβολικής νόσου στην λαπαροσκοπική χειρουργική είναι οι διεγχειρητικές επιπτώσεις στην κυκλοφορία των κάτω άκρων.



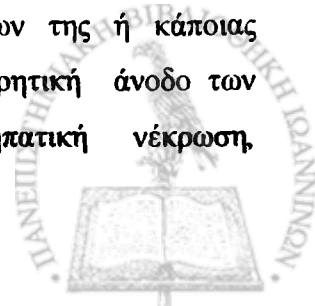
Το εύρημά μας ότι η ηπατική λειτουργία επηρεάζεται από την λαπαροσκοπική χειρουργική είναι σύμφωνο με τα αποτελέσματα άλλων μελετών. Οι Halevy και συνεργάτες (182), ανέφεραν για πρώτη φορά ότι τα επίπεδα των AST και ALT αυξήθηκαν σημαντικά σε ασθενείς μετά από λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή. Έκτοτε, αρκετές πειραματικές και κλινικές μελέτες έδειξαν διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας μετά από λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή (42;207-209). Ως πιθανά αίτια για την αύξηση των ηπατικών ενζύμων έχουν προταθεί η δημιουργία πνευμοπεριτοναίου, τα πιεστικά φαινόμενα που προκαλούνται στο ήπαρ από την έλξη στην χοληδόχο κύστη, το θερμικό τραύμα στην επιφάνεια του ήπατος από την χρήση ηλεκτροδιαθερμίας, η πιθανή μετανάστευση λίθων μικρής διαμέτρου στο χοληφόρο σύστημα κατά την αφαίρεση της χοληδόχου κύστης, η απολίνωση της δεξιάς ηπατικής αρτηρίας ή κλάδων της και η γενική αναισθησία.

Σύμφωνα με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης το πνευμοπεριτόναιο φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στην αύξηση των ηπατικών ενζύμων. Οι κύριοι μηχανισμοί φαίνεται να είναι η μείωση της ροής στην πυλαία φλέβα από ενδοκοιλιακή πίεση της τάξης των 12-14 mm Hg και η συνακόλουθη πρόκληση χαμηλής ροής ηπατικής ισχαιμίας. Η άρση του πνευμοπεριτοναίου προκαλεί σύνδρομο ισχαιμίας – επαναιμάτωσης με παραγωγή ελευθέρων ριζών, προϊόντων λιπιδιακής υπεροξειδωσης, ενεργοποίηση πολυμορφοπυρήνων και ιστική βλάβη πιο εμφανή κατά την όψιμη φάση της επαναιμάτωσης (4-24 ώρες μετά την άρση του πνευμοπεριτοναίου).

Τα πιεστικά φαινόμενα που προκαλούνται στο ήπαρ από την έλξη στην χοληδόχο κύστη, έχουν θεωρηθεί ως ένα από τα αίτια της αύξησης των ηπατικών ενζύμων. Η παρούσα μελέτη όμως έδειξε ότι στην ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής η αύξηση στα ηπατικά ένζυμα ήταν μικρότερη, παρόλο που οι χειρισμοί και η πίεση στο ήπαρ αναμένεται να είναι μεγαλύτερη.

Το θερμικό τραύμα στο ήπαρ από την χρήση ηλεκτροδιαθερμίας έχει αναφερθεί ως ένα από τα αίτια αύξησης των ηπατικών ενζύμων (210-212). Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι η αύξηση στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χειρουργικής ήταν μεγαλύτερη από ότι στην ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής. Φαίνεται λοιπόν ότι ο ρόλος του θερμικού τραύματος στην παθοφυσιολογία της αύξησης ηπατικών ενζύμων είναι μικρός.

Η απολίνωση της δεξιάς ηπατικής αρτηρίας ή κλάδων της ή κάποιας επικουρικής αρτηρίας, έχει συσχετιστεί με σημαντική μετεγχειρητική άνοδο των ηπατικών ενζύμων και σημαντικές κλινικές επιπλοκές (ηπατική νέκρωση,

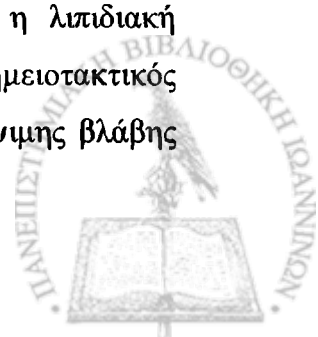


απόστημα) (213-215). Η αρτηριακή αυτή απόφραξη μπορεί να συμβεί όταν υπάρχουν αρκετές συμφύσεις στο τρίγωνο του Callot ή υπάρχει ανατομική ανωμαλία. Στην παρούσα μελέτη, σε δύο περιπτώσεις της ομάδας της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής σημειώθηκε πολύ μεγάλη αύξηση των ηπατικών ενζύμων (5 και 10 φορές σε σχέση με τα μετεγχειρητικά επίπεδα). Στις συγκεκριμένες αυτές περιπτώσεις η απολίνωση αρτηριακών κλάδων που τροφοδοτούν το δεξιό ήπαρ θα μπορούσε να είναι το αίτιο της υπερτρανσαμινασαιμίας.

Επιπλέον, η γενική αναισθησία έχει ενοχοποιηθεί για την πρόκληση παροδικής ηπατικής δυσλειτουργίας (216;217). Αυτή η επιπλοκή σχετίζεται με μεταβολές στην σπλαχνική αιματική ροή και στην κατανάλωση οξυγόνου. Στην παρούσα όμως μελέτη χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις επεμβάσεις συγκεκριμένα αναισθητικά, με μη εγνωσμένη ηπατοτοξική δράση και, συνεπώς, η γενική αναισθησία δεν φαίνεται να είναι το αίτιο της αύξησης των τρανσαμινασών.

Στην μελέτη μας διαπιστώθηκε επίσης αύξηση στα ηπατικά ένζυμα στην ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής, αλλά αυτή η αύξηση ήταν μικρότερη αν την συγκρίνουμε με την αύξηση στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής, και ειδικά για την ALT αυτή η διαφορά ήταν σημαντική. Η ALT είναι κυτταροπλασματικό ένζυμο των ηπατοκυττάρων, αλλά βρίσκεται επίσης σε μικρές ποσότητες στην καρδιά και στους σκελετικούς μύες. Αν και η συνολική ποσότητα στον οργανισμό είναι μικρότερη από την AST, ένα μεγαλύτερο ποσοστό αυτής σε σύγκριση με την AST βρίσκεται στο ήπαρ (218). Γι'αυτό αύξηση της ALT στον ορό είναι πιο ειδική για ηπατική βλάβη από ό,τι αύξηση της AST. Ανάλογα ευρήματα με μεγαλύτερη αύξηση των τρανσαμινασών σε λαπαροσκοπικές χολοκυστεκτομές σε σχέση με ανοιχτές έχουν παρατηρηθεί σε άλλες μελέτες (219). Επίσης, πρόσφατη συγκριτική κλινική μελέτη, με ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπική ή ανοιχτή ηπατεκτομή έδειξε ότι η μετεγχειρητική αύξηση των τρανσαμινασών ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα της λαπαροσκοπικής ηπατεκτομής παρόλο που η διεγχειρητική απώλεια αίματος ήταν σημαντικά μικρότερη(220).

Η αύξηση των προϊόντων της λιπιδιακής υπεροξειδωσης μετά την άρση του πνευμοπεριτοναίου είναι σε άμεση συσχέτιση με την αύξηση των τρανσαμινασών κατά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα. Είναι λογικό να υποθέσουμε ότι η λιπιδιακή υπεροξειδωση έχει διττό ρόλο: δρα άμεσα κυτταροτοξικά, αλλά και ως χημειοτακτικός παράγοντας προσέλκυσης ουδετερόφιλων και άρα, μεσολαβητής της όψιμης βλάβης από επανακυκλοφορία.



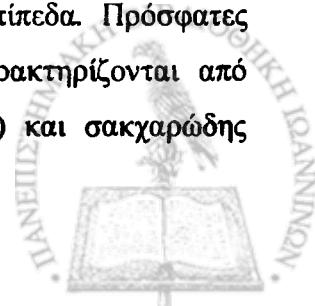
Το ουρικό οξύ (2, 6, 8-τριοξοπουρίνη) παράγεται στα θηλαστικά ως ένα τελικό προϊόν του μεταβολισμού των πουρινών. Επίσης σε καταστάσεις ισχαιμίας το ATP μετατρέπεται σε αδενοσινομονοφωσφορικό οξύ (ΑΜΠ) και αυτό στην συνέχεια καταβολίζεται σε αδενοσίνη, ινοσίνη και τελικά σε υποξανθίνη. Η υποξανθίνη κατά την φάση της επαναϊμάτωσης οξειδώνεται σε ξανθίνη με την βοήθεια του ενζύμου οξειδάση της ξανθίνης με ταυτόχρονη παραγωγή ουρικού οξέος και της ελεύθερης ρίζας ανιόντος του σουπεροξειδίου.

Το ουρικό οξύ στα περισσότερα θηλαστικά μετατρέπεται σε αλλαντοΐνη μέσω του ενζύμου ουρικάση (οξειδάση του ουρικού). Το ανθρώπινο είδος όμως έχει έλλειψη της ουρικάσης λόγω μεταλλάξεων στο γονίδιο έκφρασης της οξειδάσης του ουρικού(221). Για τον λόγο αυτό το ουρικό οξύ βρίσκεται στον ανθρώπινο ορό του αίματος σε συγκεντώσεις μεγαλύτερες (> 2 mg / dL) από αυτές των άλλων θηλαστικών (<2 mg / dL), αποβάλλεται δε δια των ούρων(222).

Το ουρικό οξύ θεωρείται ένα από τα κύρια υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά στα ανθρώπινα βιολογικά υγρά (144) και μπορεί να δράσει ως αντιοξειδωτικό με διάφορους τρόπους: μέσω της δέσμευσης ιόντων σιδήρου και χαλκού σε μορφές που δεν επιταχύνουν τις αντιδράσεις ελευθέρων ριζών, και μέσω της απευθείας δέσμευσης οξειδωτικών ουσιών, όπως μονήρες οξυγόνο, υποχλωριώδες οξύ και περοξυλικές ρίζες (222;223). Επίσης αναστέλλει την αντίδραση του ανιόντος του σουπεροξειδίου με το μονοξειδίο του αζώτου πιθανότατα μέσω της πρόληψης της αποδόμησης του εξωκυττάριου τύπου της δισμουτάσης του σουπεροξειδίου (224). Έτσι μπλοκάρεται ο σχηματισμός του περοξυνιτρώδους ανιόντος (ONOO⁻) και με αυτό τον τρόπο προστατεύονται οι κυτταρικές πρωτεΐνες από νιτροσλίωση.

Κλινικές μελέτες (225;226) έδειξαν ότι το ουρικό οξύ δρα ως ένα αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό *in vivo* σε μοντέλα ισχαιμίας – επαναϊμάτωσης υπό συνθήκες οξειδωτικού stress. Δύο διπλές τυφλές τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση ουρικού οξέος σε υγιείς εθελοντές βελτίωσε σημαντικά τα επίπεδα της ολικής τους αντιοξειδωτικής ικανότητας(227;228).

Στην μελέτη μας, τα επίπεδα του ουρικού οξέος μειώθηκαν σημαντικά την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα σε σχέση με τα προεγχειρητικά επίπεδα. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ανάλογες μεταβολές σε νόσους που χαρακτηρίζονται από αυξημένο οξειδωτικό stress όπως καρκίνος παχέος εντέρου(229) και σακχαρώδης



διαβήτη τύπου I (230). Επίσης, σε ασθενείς με οξύ αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος μειώθηκε με παράλληλη μείωση των επιπέδων του ουρικού οξέος(231). Η νευρολογική βλάβη κατά την εμφάνιση του αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου καθώς και το τελικό μέγεθος του εμφράκτου φαίνεται να σχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με την συγκέντρωση του ουρικού οξέος(232).

Πιστεύουμε ότι οι μεταβολές στα επίπεδα ουρικού οξέος θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης οξειδωτικού stress στη λαπαροσκοπική χειρουργική. Σε αρκετές μελέτες ως δείκτης οξειδωτικού stress χρησιμοποιούνται τα επίπεδα της αλλαντοΐνης. Στο ανθρώπινο είδος, η αλλαντοΐνη είναι προϊόν της αντίδρασης του ουρικού οξέος με δραστικές μορφές οξυγόνου ή αζώτου (233). Η μέτρησή της όμως χρειάζεται πολύπλοκες και χρονοβόρες μεθόδους (147). Πιθανότατα η μέτρηση των μεταβολών του ουρικού οξέος στον ορό θα μπορούσε να δώσει χρήσιμες πληροφορίες για τις συνθήκες οξειδωτικού stress στον ανθρώπινο οργανισμό, χωρίς την ανάγκη μέτρησης άλλων μεταβολικών του προϊόντων.

Η φωτομετρική μέθοδος μέτρησης των TBARS έχει δεχτεί αρκετή κριτική για την ευαισθησία και την ειδικότητά της (234). Ένας άλλος περιορισμός φαίνεται να είναι ότι δεν μπορεί να χρησιμοποιείται για την ποσοτική σύγκριση της λιπιδιακής υπεροξειδωσης μεταξύ διαφόρων συστημάτων με διαφορετική σύνθεση και περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (137). Η παρούσα εργασία προτείνει πως η χρήση της φωτομετρικής μεθόδου στο ίδιο βιολογικό σύστημα και χωρίς επιρροές από την διατροφή, μπορεί να μας δώσει χρήσιμες πληροφορίες για την μεταβολή στην παραγωγή προϊόντων λιπιδιακής υπεροξειδωσης μετά από κάποιο stress.

Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης προτείνουν ότι κατά την εκτέλεση λαπαροσκοπικών επεμβάσεων παράγονται ελεύθερες ρίζες που μπορούν να προκαλέσουν ιστική βλάβη από ισχαιμία-επαναϊμάτωση. Παρόλη όμως την μετεγχειρητική αύξηση στα προϊόντα λιπιδιακής υπεροξειδωσης και στα ηπατικά ένζυμα, οι ασθενείς που μελετήθηκαν είχαν ομαλή μετεγχειρητική πορεία. Το ερώτημα που πρόκυπτε είναι αν υπάρχει κάποια κλινική σημασία για τα παρόντα ευρήματα. Η γνώμη μας είναι ότι η παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά την διάρκεια λαπαροσκοπικών επεμβάσεων μικρής διάρκειας, σε νέους ασθενείς, έχει μόνο ακαδημαϊκό ενδιαφέρον.



Εντούτοις, είναι πολύ πιθανό, στο άμεσο μέλλον, ασθενείς όλων των ηλικιών που πάσχουν από ένα ευρύ φάσμα καλοήθων και κακοήθων νοσημάτων, να χειρουργούνται λαπαροσκοπικά. Υπάρχουν ήδη αρκετές κλινικές μελέτες που αναφέρουν αρνητικές επιπτώσεις του πνευμοπεριτοναίου στο καρδιαγγειακό σύστημα (34), στην εντερική κυκλοφορία (235), στην ενδοκράνια πίεση (79) στην ηπατική (236) και στη νεφρική λειτουργία (51).

Για να απαντηθεί το παραπάνω ερώτημα είναι απαραίτητο, κατά την γνώμη μας, να γίνουν νέες μελέτες που θα διερευνήσουν τις επιπτώσεις της βλάβης από ισχαιμία-επαναιμάτωση σε ηλικιωμένους ασθενείς, οι οποίοι υποβάλλονται σε μεγάλης διάρκειας λαπαροσκοπικές επεμβάσεις, σε ασθενείς με καρδιοαναπνευστικά προβλήματα, με ηπατική ανεπάρκεια, και με κακοήθη νοσήματα. Η πιθανή προστατευτική δράση σκευασμάτων με αντιοξειδωτική δράση και τεχνικών μηχανικής ανύψωσης του κοιλιακού τοιχώματος θα έπρεπε επίσης να μελετηθούν κατά την γνώμη μας.

Οπωσδήποτε όμως μέχρι την αποκρυστάλλωση οριστικών συμπερασμάτων θεωρείται σάφρον οι λαπαροσκοπικές επεμβάσεις να εκτελούνται με χαμηλό πνευμοπεριτόναιο της τάξεως των 10-12 mm Hg, να αποφεύγεται η αντι-Trendeleburg θέση και να υπάρχει σκεπτικισμός για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου σε ασθενείς με ηπατική ανεπάρκεια, όπου η χρήση συσκευών ανύψωσης του κοιλιακού τοιχώματος θα ήταν μία εναλλακτική λύση.



I. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή παρατηρείται άμεσα μετά το τέλος της επέμβασης αύξηση των προϊόντων λιπιδιακής υπεροξειδωσης, και αύξηση των ηπατικών ενζύμων την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα. Η αύξηση αυτή είναι σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη που παρατηρείται στην ομάδα των ασθενών που υποβάλλονται σε ανοιχτή χολοκυστεκτομή. Το εύρημα αυτό αποτελεί ένδειξη ότι η εισαγωγή πνευμοπεριτοναίου στη λαπαροσκοπική χειρουργική προκαλεί οξειδωτικό stress πιθανότατα μέσω του φαινομένου ισχαιμίας-επαναιμάτωσης.
2. Η μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος *in vivo*, σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, δίνει χρήσιμες πληροφορίες για την ανταπόκριση του αντιοξειδωτικού συστήματος του οργανισμού στο οξειδωτικό stress και στη φλεγμονή. Η μελέτη των μεταβολών της λανθάνουσας περιόδου αντίδρασης φαίνεται να είναι ένας καλός δείκτης της αντιοξειδωτικής δράσης του πλάσματος.
3. Οι μεταβολές στα επίπεδα του ουρικού οξέος στον ορό ασθενών που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπικές επεμβάσεις, είναι ανάλογες των μεταβολών στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης οξειδωτικού stress.
4. Η φωτομετρική μέθοδος μέτρησης των TBARS μπορεί να δώσει χρήσιμες πληροφορίες κατά τη μελέτη των ποσοτικών διαφορών, σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, στο ίδιο βιολογικό σύστημα.



5. Περαιτέρω κλινικές μελέτες είναι απαραίτητες για την διερεύνηση εις βάθος των επιπτώσεων του πνευμοπεριτοναίου σε ειδικές ομάδες ασθενών (ηλικιωμένοι, με: ηπατική ανεπάρκεια, καρδιακή ανεπάρκεια, αναπνευστικά προβλήματα). Η παρούσα μελέτη προτείνει αποφυγή υψηλών πιέσεων κατά την εκτέλεση λαπαροσκοπικών επεμβάσεων.



ΙΑ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Υπόστρωμα: Η λαπαροσκοπική χειρουργική έχει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με την ανοιχτή χειρουργική, όπως: λιγότερο μετεγχειρητικό άλγος, μετεγχειρητική νοσηλεία, ταχύτερη επάνοδο στην φυσιολογική δραστηριότητα και καλύτερο αισθητικό αποτέλεσμα. Για την εκτέλεσή της όμως, είναι απαραίτητη η δημιουργία πνευμοπεριτοναίου με την εισαγωγή διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Το πνευμοπεριτόναιο αυξάνει την ενδοκοιλιακή πίεση (ΕΠ), και προκαλεί σπλαχνική ισχαιμία, ενώ η άρση αυτού επαναφέρει την ΕΠ σε φυσιολογικά επίπεδα και αποκαθιστά την σπλαχνική αιματική ροή. Αυτή η διαδικασία φαίνεται να αποτελεί μοντέλο ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Είναι γνωστό ότι σε καταστάσεις ισχαιμίας – επαναιμάτωσης παράγονται ελεύθερες ρίζες που είναι οι κύριοι μεσολαβητές της πρόκλησης ιστικής βλάβης. Για την ασφαλή εφαρμογή της λαπαροσκοπικής χειρουργικής είναι απαραίτητη η εκτεταμένη μελέτη της παθοφυσιολογίας του πνευμοπεριτοναίου. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης των λαπαροσκοπικών επεμβάσεων στους δείκτες οξειδωτικού stress και στην ηπατική λειτουργία. Επιπλέον μελετήθηκαν οι μεταβολές των επιπέδων ουρικού οξέος σε καταστάσεις οξειδωτικού stress.

Μέθοδοι: Μελετήθηκαν 2 ομάδες ασθενών: η πρώτη ομάδα (30 ασθενείς) με μέση ηλικίας $54,6 \pm 16$ έτη, υποβλήθηκε σε λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή (ΛΧ) και η δεύτερη ομάδα (20 ασθενείς) μέσης ηλικίας $58,3 \pm 10$ έτη, υποβλήθηκε σε ανοιχτή χολοκυστεκτομή (ΑΧ) και χρησιμοποιήθηκε ως ομάδα ελέγχου. Οι δείκτες οξειδωτικού stress που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα επίπεδα ουσιών που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) και αποτελούν δείκτες λιπιδιακής υπεροξειδωσης, και τα επίπεδα της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο πλάσμα. Οι ουσίες αυτές προσδιορίστηκαν προεγχειρητικά, 5 λεπτά μετά την άρση του πνευμοπεριτοναίου ή στο τέλος της ανοιχτής χολοκυστεκτομής και 24 ώρες μετεγχειρητικά. Στα ίδια χρονικά σημεία μετρήθηκαν και τα επίπεδα ουρικού οξέος (UA) στον ορό ασθενών. Για τη μελέτη της ηπατικής λειτουργίας, τα επίπεδα ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST), αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) και ολικής χολερυθρίνης (TBL) προσδιορίστηκαν προεγχειρητικά και 24 ώρες μετεγχειρητικά.



Αποτελέσματα: Στην ομάδα της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στα επίπεδα των TBARS στην πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο σε σύγκριση με τα προεγχειρητικά επίπεδα. Τα επίπεδα της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος και του ουρικού οξέος μειώθηκαν σημαντικά 24 ώρες μετεγχειρητικά σε σύγκριση με τα προεγχειρητικά επίπεδα. Τα μετεγχειρητικά επίπεδα των AST, ALT και TBL αυξήθηκαν σημαντικά σε σχέση με τα προεγχειρητικά επίπεδα. Στην ομάδα της ανοιχτής χολοκυστεκτομής δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στα επίπεδα των TBARS σε σχέση με τα προεγχειρητικά επίπεδα. Οι μεταβολές στα επίπεδα της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και του ουρικού οξέος ήταν στην ίδια κατεύθυνση και σχετικά πιο έντονες από αυτές της ομάδας της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής. Η αύξηση στα επίπεδα της ALT ήταν σημαντικά μικρότερη από αυτή στην λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή.

Συμπεράσματα: Η εισαγωγή και η άρση πνευμοπεριτοναίου δημιουργούν συνθήκες οξειδωτικού stress με αυξημένη παραγωγή προϊόντων λιπιδιακής υπεροξειδωσης, μείωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος και των επιπέδων του ουρικού οξέος και αύξηση των τρανσαμινασών. Στην παρούσα μελέτη όπου μελετήθηκαν ασθενείς χωρίς βεβαρυμένο ιατρικό ιστορικό, δεν υπήρχαν κλινικές επιπτώσεις. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για την διερεύνηση των επιπτώσεων του πνευμοπεριτοναίου σε ειδικές ομάδες ασθενών (ηλικιωμένοι, με ηπατική ανεπάρκεια, καρδιακή ανεπάρκεια, αναπνευστικά προβλήματα, μακροχρόνιες επεμβάσεις).



STUDY OF THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN LAPAROSCOPIC SURGERY

Georgios K. Glantzounis

General Surgeon

IB. SUMMARY

Laparoscopic surgery has many advantages compared to open surgery. It causes less postoperative pain, shorter in hospital stay, quicker return to normal activity and better cosmetic result. The main disadvantage of the laparoscopic surgery is the need for induction of pneumoperitoneum with the insufflation of CO₂ in the peritoneal cavity. The induction of pneumoperitoneum increases the intra-abdominal pressure and causes splanchnic ischemia, while the deflation restores the intra-abdominal pressure and the splanchnic blood flow to normal levels. This procedure seems to represent an ischemia-reperfusion model. It is well known that free radicals are important mediators in ischemia-reperfusion injury. The extensive study of the pathophysiology of pneumoperitoneum is necessary in order valid conclusions to be reached for the indications and the limitations of laparoscopic surgery.

The aim of the present study was to investigate the effect of laparoscopic surgery in oxidative stress markers and in hepatic function. The alterations in serum uric acid (UA) levels during laparoscopic operations were studied as well.

Two groups of patients were studied: Group A (n=30, mean age 54.6 ± 16 yrs) underwent laparoscopic cholecystectomy while group B (n=20, mean age 58.3 ± 10 yrs) underwent open cholecystectomy and acted as the control group. All the patients were ASA I or II. The oxidative stress markers that were used were: plasma levels of Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) as a marker of lipid peroxidation and plasma total antioxidant status (TAS). TBARS and TAS were measured preoperatively, 5 minutes and 24 hrs postoperatively. At the same time points serum levels of uric acid were measured. For the study of the hepatic function serum levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and total bilirubine (TBL) were measured preoperatively and 24 hrs postoperatively.



In group A (laparoscopic cholecystectomy) TBARS were significantly increased in the early postoperative period compared to preoperative levels. TAS and UA levels were significantly decreased 24 hrs postoperatively compared to preoperative levels. ALT, AST and TBL were significantly increased 24 hrs postoperatively. In group B (open cholecystectomy) there was no increase in postoperative TBARS levels. TAS and UA decreased significantly during the first postoperative day and this decrease was more obvious compared to the changes in group A. Transaminases were also increased but this increase was significantly less for ALT in comparison to laparoscopic cholecystectomy group.

In conclusion, the inflation and deflation of pneumoperitoneum in laparoscopic surgery cause conditions of oxidative stress, as indicated by the increase in lipid peroxidation products and the consumption of plasma antioxidants. The liver function is also affected as indicated by the postoperative increase in transaminases levels. There were no postoperative complications in the patients studied, since they did not have a significant past medical history. Further studies are required to look at the effects of pneumoperitoneum in specific patient groups (elderly, with hepatic failure, cardiac or respiratory failure) with longstanding operations.



Reference List

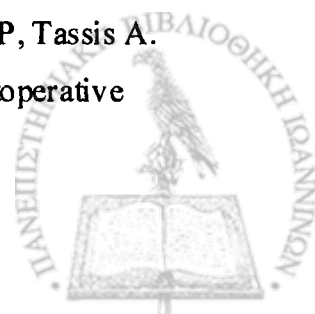
- (1) Kelling G. Uber die Ermittlung der Magengroesse. Reichel, Dresden 1890.
- (2) Kelling G. Die Tamponade der Bauchhoehle mit Luft zur Stillung lebensfaehrlicher Intestinalblutungen. Muench Med Wochenschr 1901; 48:1480.
- (3) Kelling G. Uber die Moeglichkeit, die Zystoscopie bei Untersuchung seroser Hoehlungen anzuwenden. Bemerkungen zu dem Artikel von Jacobaeus. Muench Med Wochenschr 1910; 57:2358.
- (4) Litynski G, Schaeff B, Paolucci V. [From pneumoperitoneum to coelioscopy: Georg Kelling (1866-1945)--the pioneer of laparoscopy]. Chirurg 1996; 67(3):283-287.
- (5) Jacobaeus HC. Kurze ubersicht uber meine erfahrungen mit der Laparoskopie. Muench Med Wochenschr 1911; 58:2017.
- (6) Bemheim BM. Organoscopy. Cystoscopy of the abdominal cavity. Ann Surg 1911; 53:764.
- (7) Fervers C. Die Laparoscopie mit dem Zystoskope. Med Klin 1933; 19:1042.
- (8) Kalk H. Erfahrungen mit der Laparoscopie. Z Klin Med 1929; 111:303-348.
- (9) Cottin V, Delafosse B, Viale JP. Gas embolism during laparoscopy: a report of seven cases in patients with previous abdominal surgical history. Surg Endosc 1996; 10(2):166-169.
- (10) Veress J. Neues Instrument zur Ausfuehrung von Brust oder Bauchpunktionen und Pneumothoraxbehandlung. Dtsch Med Wochenschr 1938; 64:1480.
- (11) Hasson HM. A modified instrument and method for laparoscopy. Am J Obstet Gynecol 1971; 110(6):886-887.



- (12) Neuman GG, Sidebotham G, Negoianu E, Bernstein J, Kopman AF, Hicks RG et al. Laparoscopy explosion hazards with nitrous oxide. *Anesthesiology* 1993; 78(5):875-879.
- (13) McMahon AJ, Baxter JN, Murray W, Imrie CW, Kenny G, O'Dwyer PJ. Helium pneumoperitoneum for laparoscopic cholecystectomy: ventilatory and blood gas changes. *Br J Surg* 1994; 81(7):1033-1036.
- (14) Erenoglu C, Akin ML, Kayaoglu H, Celenk T, Batkin A. Is helium insufflation superior to carbon dioxide insufflation in bacteremia and bacterial translocation with peritonitis? *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2001; 11(2):69-72.
- (15) Lyass S, Levin S, Pizov R, Reissman P. Hemodynamic effects of helium vs carbon dioxide pneumoperitoneum in an experimental model of acute heart failure. *Surg Endosc* 2001; 15(8):861-866.
- (16) Menes T, Spivak H. Laparoscopy: searching for the proper insufflation gas. *Surg Endosc* 2000; 14(11):1050-1056.
- (17) Jorgensen JO, Gillies RB, Lalak NJ, Hunt DR. Lower limb venous hemodynamics during laparoscopy: an animal study. *Surg Laparosc Endosc* 1994; 4(1):32-35.
- (18) Beebe DS, McNevin MP, Crain JM, Letourneau JG, Belani KG, Abrams JA et al. Evidence of venous stasis after abdominal insufflation for laparoscopic cholecystectomy. *Surg Gynecol Obstet* 1993; 176(5):443-447.
- (19) Reymond MA, Christen Y, Klopfenstein C, Tassile D, Bounameaux H, Morel P.. Influence of pneumoperitoneum and reverse Trendeleburg position on the venous return during laparoscopic cholecystectomy. *HPB Surg* 1995; 9:15-18.
- (20) Christen Y, Reymond MA, Vogel JJ, Klopfenstein CE, Morel P, Bounameaux H. Hemodynamic effects of intermittent pneumatic compression of the lower limbs during laparoscopic cholecystectomy. *Am J Surg* 1995; 170(4):395-398.



- (21) Comerota AJ, Stewart GJ, White JV. Combined dihydroergotamine and heparin prophylaxis of postoperative deep vein thrombosis: proposed mechanism of action. *Am J Surg* 1985; 150(4A):39-44.
- (22) Caprini JA, Arcelus JI, Laubach M, Size G, Hoffman KN, Coats RW et al. Postoperative hypercoagulability and deep-vein thrombosis after laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 1995; 9(3):304-309.
- (23) Pike GK, Bessell JR, Mathew G, Watson DI, Mitchell PC, Jamieson GG. Changes in fibrinogen levels in patients undergoing open and laparoscopic Nissen fundoplication. *Aust N Z J Surg* 1996; 66(2):94-96.
- (24) Schwenk W, Bohm B, Fugener A, Muller JM. Intermittent pneumatic sequential compression (ISC) of the lower extremities prevents venous stasis during laparoscopic cholecystectomy. A prospective randomized study. *Surg Endosc* 1998; 12(1):7-11.
- (25) Catheline JM, Turner R, Gaillard JL, Rizk N, Champault G. Thromboembolism in laparoscopic surgery: risk factors and preventive measures. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 1999; 9(2):135-139.
- (26) Lord RV, Ling JJ, Hugh TB, Coleman MJ, Doust BD, Nivison-Smith I. Incidence of deep vein thrombosis after laparoscopic vs minilaparotomy cholecystectomy. *Arch Surg* 1998; 133(9):967-973.
- (27) Alishahi S, Francis N, Crofts S, Duncan L, Bickel A, Cuschieri A. Central and peripheral adverse hemodynamic changes during laparoscopic surgery and their reversal with a novel intermittent sequential pneumatic compression device. *Ann Surg* 2001; 233(2):176-182.
- (28) Marshall NJ, Bessell JR, Maddern GJ. Study of venous blood flow changes during laparoscopic surgery using a thermodilution technique. *Aust N Z J Surg* 2000; 70(9):639-643.
- (29) Tsimoyiannis EC, Floras G, Antoniou N, Papanikolaou N, Siakas P, Tassis A. Low-molecular-weight heparins and Daflon for prevention of postoperative thromboembolism. *World J Surg* 1996; 20(8):968-971.



- (30) Barnes GE, Laine GA, Giam PY, Smith EE, Granger HJ. Cardiovascular responses to elevation of intra-abdominal hydrostatic pressure. *Am J Physiol* 1985; 248(2 Pt 2):R208-R213.
- (31) Diebel LN, Dulchavsky SA, Wilson RF. Effect of increased intra-abdominal pressure on mesenteric arterial and intestinal mucosal blood flow. *J Trauma* 1992; 33(1):45-48.
- (32) Diebel LN, Wilson RF, Dulchavsky SA, Saxe J. Effect of increased intra-abdominal pressure on hepatic arterial, portal venous, and hepatic microcirculatory blood flow. *J Trauma* 1992; 33(2):279-282.
- (33) Kotzampassi K, Kapanidis N, Kazamias P, Eleftheriadis E. Hemodynamic events in the peritoneal environment during pneumoperitoneum in dogs. *Surg Endosc* 1993; 7(6):494-499.
- (34) Ishizaki Y, Bandai Y, Shimomura K, Abe H, Ohtomo Y, Idezuki Y. Changes in splanchnic blood flow and cardiovascular effects following peritoneal insufflation of carbon dioxide. *Surg Endosc* 1993; 7(5):420-423.
- (35) Richardson PD, Withrington PG. Liver blood flow. I. Intrinsic and nervous control of liver blood flow. *Gastroenterology* 1981; 81(1):159-173.
- (36) Jiao LR, Seifalian AM, Mathie RT, Habib N, Davidson BR. Portal flow augmentation for liver cirrhosis. *Br J Surg* 2000; 87(8):984-991.
- (37) Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Papanotas K, Heliadis N, Sarris K. Gut ischemia, oxidative stress, and bacterial translocation in elevated abdominal pressure in rats. *World J Surg* 1996; 20(1):11-16.
- (38) Junghans T, Bohm B, Grundel K, Schwenk W, Muller JM. Does pneumoperitoneum with different gases, body positions, and intraperitoneal pressures influence renal and hepatic blood flow? *Surgery* 1997; 121(2):206-211.



- (39) Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Botsios D, Tzartinoglou E, Farmakis H, Dadoukis J. Splanchnic ischemia during laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 1996; 10(3):324-326.
- (40) Thaler W, Frey L, Marzoli GP, Messmer K. Assessment of splanchnic tissue oxygenation by gastric tonometry in patients undergoing laparoscopic and open cholecystectomy. *Br J Surg* 1996; 83(5):620-624.
- (41) Giraud G, Brachet CR, Caccetta M, Morino M. Gasless laparoscopy could avoid alterations in hepatic function. *Surg Endosc* 2001; 15(7):741-746.
- (42) Morino M, Giraud G, Festa V. Alterations in hepatic function during laparoscopic surgery. An experimental clinical study. *Surg Endosc* 1998; 12(7):968-972.
- (43) Schmandra TC, Kim ZG, Gutt CN. Effect of insufflation gas and intraabdominal pressure on portal venous flow during pneumoperitoneum in the rat. *Surg Endosc* 2001; 15(4):405-408.
- (44) Schilling M, Kraehenbuel L, Friess H, Zraggen K, Buechler MW. Physiological changes during pneumoperitoneum. *Dig Surg* 1996; 13:2-5.
- (45) Viinamki O, Punnonen R. Vasopressin release during laparoscopy: role of increased intra-abdominal pressure. *Lancet* 1982; 1(8264):175-176.
- (46) Saxe JM, Ledgerwood AM, Lucas CE. Management of the difficult abdominal closure. *Surg Clin North Am* 1993; 73(2):243-251.
- (47) Thorington JM SCF. A study of urinary output and blood pressure changes resulting in experimental ascites. *Am J Med Sci* 1923; 165:880-886.
- (48) Chiu AW, Chang LS, Birkett DH, Babayan RK. A porcine model for renal hemodynamic study during laparoscopy. *J Surg Res* 1996; 60(1):61-68.
- (49) Guler C, Sade M, Kirkali Z. Renal effects of carbon dioxide insufflation in rabbit pneumoretroperitoneum model. *J Endourol* 1998; 12(4):367-370.



- (50) London ET, Ho HS, Neuhaus AM, Wolfe BM, Rudich SM, Perez RV. Effect of intravascular volume expansion on renal function during prolonged CO₂ pneumoperitoneum. *Ann Surg* 2000; 231(2):195-201.
- (51) Ben David B, Croitoru M, Gaitini L. Acute renal failure following laparoscopic cholecystectomy: a case report. *J Clin Anesth* 1999; 11(6):486-489.
- (52) Stone HH, Fulenwider JT. Renal decapsulation in the prevention of post-ischemic oliguria. *Ann Surg* 1977; 186(3):343-355.
- (53) Bloomfield GL, Blocher CR, Fakhry IF, Sica DA, Sugerman HJ. Elevated intra-abdominal pressure increases plasma renin activity and aldosterone levels. *J Trauma* 1997; 42(6):997-1004.
- (54) Wittgen CM, Andrus CH, Fitzgerald SD, Baudendistel LJ, Dahms TE, Kaminski DL. Analysis of the hemodynamic and ventilatory effects of laparoscopic cholecystectomy. *Arch Surg* 1991; 126(8):997-1000.
- (55) Steigerwald S, Bockhorn H, Dernhardt R. Respiratory changes during carbon dioxide pneumoperitoneum. In: Rosental RJ, Friedman RL, Phillips EH, editors. *The Pathophysiology of pneumoperitoneum*. Berlin: Springer-Verlag, 1998: 70-76.
- (56) Tsilibary EC, Wissig SL. Lymphatic absorption from the peritoneal cavity: regulation of patency of mesothelial stomata. *Microvasc Res* 1983; 25(1):22-39.
- (57) Flessner MF, Dedrick RL, Schultz JS. A distributed model of peritoneal-plasma transport: theoretical considerations. *Am J Physiol* 1984; 246(4 Pt 2):R597-R607.
- (58) Schwartz SJ, Shires GT, Spencer FC. *Principles of Surgery*. New York: Mac Graw Hill, 1989.



- (59) Motew M, Ivankovich AD, Bieniarz J, Albrecht RF, Zahed B, Scommegna A. Cardiovascular effects and acid-base and blood gas changes during laparoscopy. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 115(7):1002-1012.
- (60) Ivankovich AD, Miletich DJ, Albrecht RF, Heyman HJ, Bonnet RF. Cardiovascular effects of intraperitoneal insufflation with carbon dioxide and nitrous oxide in the dog. *Anesthesiology* 1975; 42(3):281-287.
- (61) Pross M, Schulz HU, Flechsig A, Manger T, Halangk W, Augustin W et al. Oxidative stress in lung tissue induced by CO₂ pneumoperitoneum in the rat. *Surg Endosc* 2000; 14(12):1180-1184.
- (62) Fitzgerald SD, Andrus CH, Baudendistel LJ, Dahms TE, Kaminski DL. Hypercarbia during carbon dioxide pneumoperitoneum. *Am J Surg* 1992; 163(1):186-190.
- (63) Azar I. Monitoring and Management of Physiological Changes Caused by Pneumoperitoneum. In: Rosental RJ, Friedman RL, Phillips EH, editors. *The pathophysiology of pneumoperitoneum*. Berlin: Springer-Verlag, 1998: 115-130.
- (64) Pursnani KG, Bazza Y, Calleja M, Mughal MM. Laparoscopic cholecystectomy under epidural anesthesia in patients with chronic respiratory disease. *Surg Endosc* 1998; 12(8):1082-1084.
- (65) Schmidt J, Carbajo MA, Lampert R, Zirngibl H. Laparoscopic intraperitoneal onlay polytetrafluoroethylene mesh repair (IPOM) for inguinal hernia during spinal anesthesia in patients with severe medical conditions. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2001; 11(1):34-37.
- (66) Scott DB, Julian DG. Observations on cardiac arrhythmias during laparoscopy. *Br Med J* 1972; 1(797):411-413.
- (67) Rasmussen JP, Dauchot PJ, DePalma RG, Sorensen B, Regula G, Anton AH et al. Cardiac function and hypercarbia. *Arch Surg* 1978; 113(10):1196-1200.



- (68) van den Bos GC, Drake AJ, Noble MI. The effect of carbon dioxide upon myocardial contractile performance, blood flow and oxygen consumption. *J Physiol* 1979; 287:149-161.
- (69) Odeberg S, Ljungqvist O, Svenberg T, Gannedahl P, Backdahl M, von Rosen A et al. Haemodynamic effects of pneumoperitoneum and the influence of posture during anaesthesia for laparoscopic surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1994; 38(3):276-283.
- (70) Struthers AD, Cuschieri A. Cardiovascular consequences of laparoscopic surgery. *Lancet* 1998; 352(9127):568-570.
- (71) Safran D, Sgambati S, Orlando R, III. Laparoscopy in high-risk cardiac patients. *Surg Gynecol Obstet* 1993; 176(6):548-554.
- (72) Gebhardt H, Bautz A, Ross M, Loose D, Wulf H, Schaube H. Pathophysiological and clinical aspects of the CO₂ pneumoperitoneum (CO₂-PP). *Surg Endosc* 1997; 11(8):864-867.
- (73) O'Leary E, Hubbard K, Tormey W, Cunningham AJ. Laparoscopic cholecystectomy: haemodynamic and neuroendocrine responses after pneumoperitoneum and changes in position. *Br J Anaesth* 1996; 76(5):640-644.
- (74) Hirvonen EA, Poikolainen EO, Paakkonen ME, Nuutinen LS. The adverse hemodynamic effects of anesthesia, head-up tilt, and carbon dioxide pneumoperitoneum during laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 2000; 14(3):272-277.
- (75) Irwin MG, Ng JK. Transoesophageal acoustic quantification for evaluation of cardiac function during laparoscopic surgery. *Anaesthesia* 2001; 56(7):623-629.
- (76) Horvath KD, Whelan RL, Lier B, Viscomi S, Barry L, Buck K et al. The effects of elevated intraabdominal pressure, hypercarbia, and positioning on the hemodynamic responses to laparoscopic colectomy in pigs. *Surg Endosc* 1998; 12(2):107-114.



- (77) Galizia G, Prizio G, Lieto E, Castellano P, Pelosio L, Imperatore V et al. Hemodynamic and pulmonary changes during open, carbon dioxide pneumoperitoneum and abdominal wall-lifting cholecystectomy. A prospective, randomized study. *Surg Endosc* 2001; 15(5):477-483.
- (78) Uen YH, Liang AI, Lee HH. Randomized comparison of conventional carbon dioxide insufflation and abdominal wall lifting for laparoscopic cholecystectomy. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2002; 12(1):7-14.
- (79) Josephs LG, Este-McDonald JR, Birkett DH, Hirsch EF. Diagnostic laparoscopy increases intracranial pressure. *J Trauma* 1994; 36(6):815-818.
- (80) Rosenthal RJ, Hiatt JR, Phillips EH, Hewitt W, Demetriou AA, Grode M. Intracranial pressure. Effects of pneumoperitoneum in a large-animal model. *Surg Endosc* 1997; 11(4):376-380.
- (81) Irgau I, Koyfman Y, Tikellis JI. Elective intraoperative intracranial pressure monitoring during laparoscopic cholecystectomy. *Arch Surg* 1995; 130(9):1011-1013.
- (82) Schob OM, Allen DC, Benzel E, Curet MJ, Adams MS, Baldwin NG et al. A comparison of the pathophysiologic effects of carbon dioxide, nitrous oxide, and helium pneumoperitoneum on intracranial pressure. *Am J Surg* 1996; 172(3):248-253.
- (83) Ducker TB, Simmons RL, Anderson RW, Kempe LG. Hemodynamic cardiovascular response to raised intracranial pressure. *Med Ann Dist Columbia* 1968; 37(10):523-525.
- (84) Doppman J, Rubinson RM, Rockoff SD, Vasko JS, Shapiro R, Morrow AG. Mechanism of obstruction of the infradiaphragmatic portion of the inferior vena cava in the presence of increased intra-abdominal pressure. *Invest Radiol* 1966; 1(1):37-53.
- (85) Luz CM, Polarz H, Bohrer H, Hundt G, Dorsam J, Martin E. Hemodynamic and respiratory effects of pneumoperitoneum and PEEP during laparoscopic pelvic lymphadenectomy in dogs. *Surg Endosc* 1994; 8(1):25-27.



- (86) Milhorat TH. The third circulation revisited. *J Neurosurg* 1975; 42(6):628-645.
- (87) Fujii Y, Tanaka H, Tsuruoka S, Toyooka H, Amaha K. Middle cerebral arterial blood flow velocity increases during laparoscopic cholecystectomy. *Anesth Analg* 1994; 78(1):80-83.
- (88) Berci G, Sackier JM, Paz-Partlow M. Emergency laparoscopy. *Am J Surg* 1991; 161(3):332-335.
- (89) Holthausen UH, Nagelschmidt M, Troidl H. CO(2) pneumoperitoneum: what we know and what we need to know. *World J Surg* 1999; 23(8):794-800.
- (90) Kopernik G, Avinoach E, Grossman Y, Levy R, Yulzari R, Rogachev B et al. The effect of a high partial pressure of carbon dioxide environment on metabolism and immune functions of human peritoneal cells-relevance to carbon dioxide pneumoperitoneum. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179(6 Pt 1):1503-1510.
- (91) Tug T, Ozbas S, Tekeli A, Gundogdu H, Doseyen Z, Kuzu I. Does pneumoperitoneum cause bacterial translocation? *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 1998; 8(6):401-407.
- (92) Vittimberga FJ, Nolan B, Perugini RA, Spector L, Callery MP. Laparoscopic surgery and Kupffer cell activation. *Surg Endosc* 2000; 14(12):1171-1176.
- (93) Mitchell JB, Russo A, Kuppasamy P, Krishna MC. Radiation, radicals, and images. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899:28-43.
- (94) Commoner B, Townsend J, Pake GE. Free radicals in biological materials. *Nature* 1954; 174(4432):689-691.
- (95) Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO. Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science* 1954; 119(3097):623-626.
- (96) McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244(22):6049-6055.



- (97) McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. *J Biol Chem* 1969; 244(22):6056-6063.
- (98) Galaris D. *Free Radicals: Chemistry and Biochemistry*. University of Ioannina, 2001.
- (99) Tsimoyiannis EC. *Oxygen: source of life, source of death*. 1991.
- (100) Halliwell B GJ. *Free Radicals in biology and medicine*. Third ed. New York: Oxford University Press, 1999.
- (101) Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000; 49(2 Suppl 1):3-8.
- (102) Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(10):1456-1462.
- (103) Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279(6):L1005-L1028.
- (104) Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59(3):527-605.
- (105) Nakamura H, Nakamura K, Yodoi J. Redox regulation of cellular activation. *Annu Rev Immunol* 1997; 15:351-369.
- (106) White JW, Subers MH, Schepartz AI. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. *Biochim Biophys Acta* 1963; 73:57-70.
- (107) Bae YS, Kang SW, Seo MS, Baines IC, Tekle E, Chock PB et al. Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. Role in EGF receptor-mediated tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem* 1997; 272(1):217-221.



- (108) Robinson KA, Stewart CA, Pye QN, Nguyen X, Kenney L, Salzman S et al. Redox-sensitive protein phosphatase activity regulates the phosphorylation state of p38 protein kinase in primary astrocyte culture. *J Neurosci Res* 1999; 55(6):724-732.
- (109) Bielski BH, Cabelli D. Active Oxygen in Chemistry, Chapter 3. In: Foote CS, editor. London: Blackie, 1995.
- (110) Fenton HJH. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *J Chem Soc* 1894; 65:899.
- (111) Haber F, Weiss J. The catalytic decomposition of hydrogen by iron salts. *Proc R Soc London Ser A* 1933; 147:332-337.
- (112) Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(5 Suppl):715S-724S.
- (113) Schraufstatter IU, Browne K, Harris A, Hyslop PA, Jackson JH, Quehenberger O et al. Mechanisms of hypochlorite injury of target cells. *J Clin Invest* 1990; 85(2):554-562.
- (114) Sokol RJ, Hoffenberg EJ. Antioxidants in pediatric gastrointestinal disease. *Pediatr Clin North Am* 1996; 43(2):471-488.
- (115) Dusting GJ. Nitric oxide in cardiovascular disorders. *J Vasc Res* 1995; 32(3):143-161.
- (116) Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43(2):109-142.
- (117) Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001; 53(1):135-159.
- (118) Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(4):1620-1624.



- (119) Doulias PT, Barbouti A, Galaris D, Ischiropoulos H. SIN-1-induced DNA damage in isolated human peripheral blood lymphocytes as assessed by single cell gel electrophoresis (comet assay). *Free Radic Biol Med* 2001; 30(6):679-685.
- (120) Sies H. Oxidative stress II. oxidants and antioxidants. Academic Press, London, 1991.
- (121) Sun JZ, Tang XL, Park SW, Qiu Y, Turrens JF, Bolli R. Evidence for an essential role of reactive oxygen species in the genesis of late preconditioning against myocardial stunning in conscious pigs. *J Clin Invest* 1996; 97(2):562-576.
- (122) Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg* 2000; 232(2):155-162.
- (123) Gonzalez-Flecha B, Demple B. Genetic responses to free radicals. Homeostasis and gene control. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899:69-87.
- (124) Gille JJ, Joenje H. Chromosomal instability and progressive loss of chromosomes in HeLa cells during adaptation to hyperoxic growth conditions. *Mutat Res* 1989; 219(4):225-230.
- (125) Nicotera P OS. Molecular mechanisms of toxic cell death; an overview. *Meth Toxicol* 1994; 1B:23-39.
- (126) Butke TM, Sandstrom PA. Redox regulation of programmed cell death in lymphocytes. *Free Radic Res* 1995; 22(5):389-397.
- (127) Mylonas C, Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage. *In Vivo* 1999; 13(3):295-309.
- (128) Horton AA, Fairhurst S. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *Crit Rev Toxicol* 1987; 18(1):27-79.



- (129) Sevanian A, Nordenbrand K, Kim E, Ernster L, Hochstein P. Microsomal lipid peroxidation: the role of NADPH--cytochrome P450 reductase and cytochrome P450. *Free Radic Biol Med* 1990; 8(2):145-152.
- (130) Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41(12 Pt 2):1819-1828.
- (131) Benamira M, Johnson K, Chaudhary A, Bruner K, Tibbetts C, Marnett LJ. Induction of mutations by replication of malondialdehyde-modified M13 DNA in *Escherichia coli*: determination of the extent of DNA modification, genetic requirements for mutagenesis, and types of mutations induced. *Carcinogenesis* 1995; 16(1):93-99.
- (132) Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991; 11(1):81-128.
- (133) Muller K, Hardwick SJ, Marchant CE, Law NS, Waeg G, Esterbauer H et al. Cytotoxic and chemotactic potencies of several aldehydic components of oxidised low density lipoprotein for human monocyte-macrophages. *FEBS Lett* 1996; 388(2-3):165-168.
- (134) Richter C. Biophysical consequences of lipid peroxidation in membranes. *Chem Phys Lipids* 1987; 44(2-4):175-189.
- (135) Leonarduzzi G, Arkan MC, Basaga H, Chiarotto E, Sevanian A, Poli G. Lipid oxidation products in cell signaling. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(9):1370-1378.
- (136) Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 1992; 13(4):341-390.
- (137) Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899:136-147.



- (138) Spiteller G. Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases. *Exp Gerontol* 2001; 36(9):1425-1457.
- (139) Dianzani MU. 4-Hydroxynonenal and cell signalling. *Free Radic Res* 1998; 28(6):553-560.
- (140) Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(11-12):1173-1181.
- (141) Γαλάρης Δ, Δούλιας Π. Βιολογικά αντιοξειδωτικά. *Χημικά Χρονικά* 2000;(2):53-59.
- (142) Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 1995; 64:97-112.
- (143) Maiorino M, Aumann KD, Brigelius-Flohe R, Doria D, van den HJ, McCarthy J et al. Probing the presumed catalytic triad of selenium-containing peroxidases by mutational analysis of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx). *Biol Chem Hoppe Seyler* 1995; 376(11):651-660.
- (144) Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280(1):1-8.
- (145) Gutteridge JMC, Halliwell B. In: Chow CK, editor. *Cellular Antioxidant Defence Mechanisms*. Boca raton: CRC Press, 1988: 1-23.
- (146) Schorah CJ, Downing C, Piripitsi A, Gallivan L, Al Hazaa AH, Sanderson MJ et al. Total vitamin C, ascorbic acid, and dehydroascorbic acid concentrations in plasma of critically ill patients. *Am J Clin Nutr* 1996; 63(5):760-765.
- (147) Grootveld M, Halliwell B. Measurement of allantoin and uric acid in human body fluids. A potential index of free-radical reactions in vivo? *Biochem J* 1987; 243(3):803-808.
- (148) Diplock AT. *Fat soluble vitamins*. London: Heineman, 1985.



- (149) Esterbauer H, Schmidt R, Hayn M. Relationships among oxidation of low-density lipoprotein, antioxidant protection, and atherosclerosis. *Adv Pharmacol* 1997; 38:425-456.
- (150) Cachia O, Leger CL, Descomps B. Monocyte superoxide production is inversely related to normal content of alpha-tocopherol in low-density lipoprotein. *Atherosclerosis* 1998; 138(2):263-269.
- (151) Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. Vitamin E reduces the uptake of oxidized LDL by inhibiting CD36 scavenger receptor expression in cultured aortic smooth muscle cells. *Circulation* 2000; 102(1):82-87.
- (152) Granger DN, Parks DA. Role of oxygen radicals in the pathogenesis of intestinal ischemia. *Physiologist* 1983; 26(3):159-164.
- (153) McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312(3):159-163.
- (154) Kappas AM, Barsoum GH, Ortiz JB, Keighley MR. Prevention of peritoneal adhesions in rats with verapamil, hydrocortisone sodium succinate, and phosphatidylcholine. *Eur J Surg* 1992; 158(1):33-35.
- (155) Pannen BH. New insights into the regulation of hepatic blood flow after ischemia and reperfusion. *Anesth Analg* 2002; 94(6):1448-1457.
- (156) Bronk SF, Gores GJ. Efflux of protons from acidic vesicles contributes to cytosolic acidification of hepatocytes during ATP depletion. *Hepatology* 1991; 14(4 Pt 1):626-633.
- (157) Gunter TE, Pfeiffer DR. Mechanisms by which mitochondria transport calcium. *Am J Physiol* 1990; 258(5 Pt 1):C755-C786.
- (158) Jaeschke H, Mitchell JR. Mitochondria and xanthine oxidase both generate reactive oxygen species in isolated perfused rat liver after hypoxic injury. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 160(1):140-147.



- (159) Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Superoxide generation by Kupffer cells and priming of neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Free Radic Res Commun* 1991; 15(5):277-284.
- (160) Rymsa B, Wang JF, de Groot H. O₂⁻ release by activated Kupffer cells upon hypoxia-reoxygenation. *Am J Physiol* 1991; 261(4 Pt 1):G602-G607.
- (161) Jaeschke H, Farhood A, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Am J Physiol* 1993; 264(4 Pt 1):G801-G809.
- (162) Lentsch AB, Kato A, Yoshidome H, McMasters KM, Edwards MJ. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology* 2000; 32(2):169-173.
- (163) Jaeschke H, Farhood A, Smith CW. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo. *FASEB J* 1990; 4(15):3355-3359.
- (164) Lentsch AB, Yoshidome H, Kato A, Warner RL, Cheadle WG, Ward PA et al. Requirement for interleukin-12 in the pathogenesis of warm hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *Hepatology* 1999; 30(6):1448-1453.
- (165) Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM, Campbell DA, Jr. Role of tumor necrosis factor- α in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Clin Invest* 1990; 85(6):1936-1943.
- (166) Colletti LM, Cortis A, Lukacs N, Kunkel SL, Green M, Strieter RM. Tumor necrosis factor up-regulates intercellular adhesion molecule 1, which is important in the neutrophil-dependent lung and liver injury associated with hepatic ischemia and reperfusion in the rat. *Shock* 1998; 10(3):182-191.
- (167) Nagendra AR, Mickelson JK, Smith CW. CD18 integrin and CD54-dependent neutrophil adhesion to cytokine-stimulated human hepatocytes. *Am J Physiol* 1997; 272(3 Pt 1):G408-G416.



- (168) Wu TW, Hashimoto N, Au JX, Wu J, Mickle DA, Carey D. Trolox protects rat hepatocytes against oxyradical damage and the ischemic rat liver from reperfusion injury. *Hepatology* 1991; 13(3):575-580.
- (169) Li XK, Matin AF, Suzuki H, Uno T, Yamaguchi T, Harada Y. Effect of protease inhibitor on ischemia/reperfusion injury of the rat liver. *Transplantation* 1993; 56(6):1331-1336.
- (170) Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury--a fresh look. *Exp Mol Pathol* 2003; 74(2):86-93.
- (171) Clavien PA, Harvey PR, Sanabria JR, Cywes R, Levy GA, Strasberg SM. Lymphocyte adherence in the reperfused rat liver: mechanisms and effects. *Hepatology* 1993; 17(1):131-142.
- (172) Shen XD, Ke B, Zhai Y, Amersi F, Gao F, Anselmo DM et al. CD154-CD40 T-cell costimulation pathway is required in the mechanism of hepatic ischemia/reperfusion injury, and its blockade facilitates and depends on heme oxygenase-1 mediated cytoprotection. *Transplantation* 2002; 74(3):315-319.
- (173) Zwacka RM, Zhang Y, Halldorson J, Schlossberg H, Dudus L, Engelhardt JF. CD4(+) T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion-induced inflammatory responses in mouse liver. *J Clin Invest* 1997; 100(2):279-289.
- (174) Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15(7):718-724.
- (175) Metzger J, Dore SP, Lauterburg BH. Oxidant stress during reperfusion of ischemic liver: no evidence for a role of xanthine oxidase. *Hepatology* 1988; 8(3):580-584.
- (176) Hill J, Lindsay T, Rusche J, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. A Mac-1 antibody reduces liver and lung injury but not neutrophil sequestration after intestinal ischemia-reperfusion. *Surgery* 1992; 112(2):166-172.



- (177) Vedder NB, Fouty BW, Winn RK, Harlan JM, Rice CL. Role of neutrophils in generalized reperfusion injury associated with resuscitation from shock. *Surgery* 1989; 106(3):509-516.
- (178) Fellstrom B, Akuyrek LM, Backman U, Larsson E, Melin J, Zezina L. Postischemic reperfusion injury and allograft arteriosclerosis. *Transplant Proc* 1998; 30(8):4278-4280.
- (179) Huguet C, Gavelli A, Bona S. Hepatic resection with ischemia of the liver exceeding one hour. *J Am Coll Surg* 1994; 178(5):454-458.
- (180) Liu DL, Jeppsson B, Hakansson CH, Odselius R. Multiple-system organ damage resulting from prolonged hepatic inflow interruption. *Arch Surg* 1996; 131(4):442-447.
- (181) Jakimowicz J, Stultiens G, Smulders F. Laparoscopic insufflation of the abdomen reduces portal venous flow. *Surg Endosc* 1998; 12(2):129-132.
- (182) Halevy A, Gold-Deutch R, Negri M, Lin G, Shlamkovich N, Evans S et al. Are elevated liver enzymes and bilirubin levels significant after laparoscopic cholecystectomy in the absence of bile duct injury? *Ann Surg* 1994; 219(4):362-364.
- (183) Berg K, Wilhelm W, Grundmann U, Ladenburger A, Feifel G, Mertzlufft F. [Laparoscopic cholecystectomy--effect of position changes and CO2 pneumoperitoneum on hemodynamic, respiratory and endocrinologic parameters]. *Zentralbl Chir* 1997; 122(5):395-404.
- (184) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2):351-358.
- (185) Rice-Evans C, Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol* 1994; 234:279-293.
- (186) Eleftheriadis E, Kotzampasi K. Influence of pneumoperitoneum on the Mesenteric Circulation. In: Rosental RJ, Friedman RL, Philips EH, editors. *The pathophysiology of pneumoperitoneum*. Berlin: 1998: 49-61.



- (187) Marzt J, Shimizu M. Influence of Increased Intra-abdominal Pressure on the Hepatoportal Circulation. In: Rosental RJ, Friedman RL, Philips EH, editors. *The pathophysiology of pneumoperitoneum*. Berlin: Springer, 1998: 42-48.
- (188) Nauta RJ, Tsimoyiannis E, Uribe M, Walsh DB, Miller D, Butterfield A. Oxygen-derived free radicals in hepatic ischemia and reperfusion injury in the rat. *Surg Gynecol Obstet* 1990; 171(2):120-125.
- (189) Minotti G, Aust SD. Redox cycling of iron and lipid peroxidation. *Lipids* 1992; 27(3):219-226.
- (190) Mathews WR, Guido DM, Fisher MA, Jaeschke H. Lipid peroxidation as molecular mechanism of liver cell injury during reperfusion after ischemia. *Free Radic Biol Med* 1994; 16(6):763-770.
- (191) Jaeschke H, Kleinwaechter C, Wendel A. NADH-dependent reductive stress and ferritin-bound iron in allyl alcohol-induced lipid peroxidation in vivo: the protective effect of vitamin E. *Chem Biol Interact* 1992; 81(1-2):57-68.
- (192) Curzio M, Esterbauer H, Di Mauro C, Cecchini G, Dianzani MU. Chemotactic activity of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal and homologous hydroxyalkenals. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1986; 367(4):321-329.
- (193) Jayatilleke A, Shaw S. Stimulation of monocyte interleukin-8 by lipid peroxidation products: a mechanism for alcohol-induced liver injury. *Alcohol* 1998; 16(2):119-123.
- (194) Wang Y, Mathews WR, Guido DM, Jaeschke H. The 21-aminosteroid tirilazad mesylate protects against liver injury via membrane stabilization not inhibition of lipid peroxidation. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 277(2):714-720.
- (195) May JM, Qu ZC, Whitesell RR. Ascorbic acid recycling enhances the antioxidant reserve of human erythrocytes. *Biochemistry* 1995; 34(39):12721-12728.



- (196) Packer JE, Slater TF, Willson RL. Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature* 1979; 278(5706):737-738.
- (197) Pryor AW SP. A suggested mechanism for the production of malondialdehyde during the autooxidation of polyunsaturated fatty acids. A nonenzymatic production of prostaglandin endoperoxides during autooxidation. *J Org Chem* 1975; 40:3615-3617.
- (198) Gal I, Roth E, Lantos J, Varga G, Jaberansari MT. Inflammatory mediators and surgical trauma regarding laparoscopic access: free radical mediated reactions. *Acta Chir Hung* 1997; 36(1-4):97-99.
- (199) Galaris D, Cadenas E, Hochstein P. Glutathione-dependent reduction of peroxides during ferryl- and met-myoglobin interconversion: a potential protective mechanism in muscle. *Free Radic Biol Med* 1989; 6(5):473-478.
- (200) Galaris D, Sevanian A, Cadenas E, Hochstein P. Ferrylmyoglobin-catalyzed linoleic acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 1990; 281(1):163-169.
- (201) Galaris D, Korantzopoulos P. On the molecular mechanism of metmyoglobin-catalyzed reduction of hydrogen peroxide by ascorbate. *Free Radic Biol Med* 1997; 22(4):657-667.
- (202) Blanc-Louvry I, Coquerel A, Koning E, Maillot C, Ducrotte P. Operative stress response is reduced after laparoscopic compared to open cholecystectomy: the relationship with postoperative pain and ileus. *Dig Dis Sci* 2000; 45(9):1703-1713.
- (203) Luo K, Li JS, Li LT, Wang KH, Shun JM. Operative stress response and energy metabolism after laparoscopic cholecystectomy compared to open surgery. *World J Gastroenterol* 2003; 9(4):847-850.
- (204) Bessler M, Whelan RL, Halverson A, Treat MR, Nowygrod R. Is immune function better preserved after laparoscopic versus open colon resection? *Surg Endosc* 1994; 8(8):881-883.



- (205) Ortega AE, Peters JH, Incarbone R, Estrada L, Ehsan A, Kwan Y et al. A prospective randomized comparison of the metabolic and stress hormonal responses of laparoscopic and open cholecystectomy. *J Am Coll Surg* 1996; 183(3):249-256.
- (206) Reymond MA, Christen Y, Morel P, Kockering F. Pneumoperitoneum-Related Circulatory Changes of the Lower Extremities. In: Rosental RJ, Friedman RL, Philips EH, editors. *The pathophysiology of pneumoperitoneum*. Berlin: Springer, 1998: 28-41.
- (207) Richter S, Olinger A, Hildebrandt U, Menger MD, Vollmar B. Loss of physiologic hepatic blood flow control ("hepatic arterial buffer response") during CO₂-pneumoperitoneum in the rat. *Anesth Analg* 2001; 93(4):872-877.
- (208) Sato K, Kawamura T, Wakusawa R. Hepatic blood flow and function in elderly patients undergoing laparoscopic cholecystectomy. *Anesth Analg* 2000; 90(5):1198-1202.
- (209) Tunon MJ, Gonzalez P, Jorquera F, Llorente A, Gonzalo-Orden M, Gonzalez-Gallego J. Liver blood flow changes during laparoscopic surgery in pigs. A study of hepatic indocyanine green removal. *Surg Endosc* 1999; 13(7):668-672.
- (210) Barrat C, Capelluto E, Champault G. Intraperitoneal thermal variations during laparoscopic surgery. *Surg Endosc* 1999; 13(2):136-138.
- (211) Berger M, Junemann K, Schramm H. [Danger of monopolar current in laparoscopic gallbladder surgery]. *Zentralbl Chir* 2001; 126(8):591-595.
- (212) Capelluto E, Champault G. [Variations in intraperitoneal temperature during laparoscopic cholecystectomy]. *Ann Chir* 2000; 125(3):259-262.
- (213) Balsara KP, Dubash C, Shah CR. Pseudoaneurysm of the hepatic artery along with common bile duct injury following laparoscopic cholecystectomy. A report of two cases. *Surg Endosc* 1998; 12(3):276-277.



- (214) Kayaalp C, Nessar G, Kaman S, Akoglu M. Right liver necrosis: complication of laparoscopic cholecystectomy. *Hepatogastroenterology* 2001; 48(42):1727-1729.
- (215) Mathisen O, Soreide O, Bergan A. Laparoscopic cholecystectomy: bile duct and vascular injuries: management and outcome. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37(4):476-481.
- (216) Obata R, Bito H, Ohmura M, Moriwaki G, Ikeuchi Y, Katoh T et al. The effects of prolonged low-flow sevoflurane anesthesia on renal and hepatic function. *Anesth Analg* 2000; 91(5):1262-1268.
- (217) Scapa E, Pinshasov I, Eshchar J. Does general anesthesia affect sinusoidal liver cells as measured by beta-N-acetyl hexosaminidase serum activity level? *Hepatogastroenterology* 1998; 45:1813-1815.
- (218) Sherlock S, Dooley J. Assessment of liver function. *Diseases of the Liver and Biliary System*. London: Blackwell Publishing, 2002: 22-23.
- (219) Andrei VE, Schein M, Margolis M, Rucinski JC, Wise L. Liver enzymes are commonly elevated following laparoscopic cholecystectomy: is elevated intra-abdominal pressure the cause? *Dig Surg* 1998; 15(3):256-259.
- (220) Lesurtel M, Cherqui D, Laurent A, Tayar C, Fagniez PL. Laparoscopic versus open left lateral hepatic lobectomy: a case-control study. *J Am Coll Surg* 2003; 196(2):236-242.
- (221) Wu XW, Muzny DM, Lee CC, Caskey CT. Two independent mutational events in the loss of urate oxidase during hominoid evolution. *J Mol Evol* 1992; 34(1):78-84.
- (222) Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78(11):6858-6862.
- (223) Davies KJ, Sevanian A, Muakkassah-Kelly SF, Hochstein P. Uric acid-iron ion complexes. A new aspect of the antioxidant functions of uric acid. *Biochem J* 1986; 235(3):747-754.



- (224) Hink HU, Santanam N, Dikalov S, McCann L, Nguyen AD, Parthasarathy S et al. Peroxidase properties of extracellular superoxide dismutase: role of uric acid in modulating in vivo activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22(9):1402-1408.
- (225) Layton ME, Wood JG, Yan ZY, Forster J. Ischemia/reperfusion alters uric acid and ascorbic acid levels in liver. *J Surg Res* 1996; 64(1):1-5.
- (226) Moison RM, de Beaufort AJ, Haasnoot AA, Dubbelman TM, Zoeren-Grobben D, Berger HM. Uric acid and ascorbic acid redox ratios in plasma and tracheal aspirate of preterm babies with acute and chronic lung disease. *Free Radic Biol Med* 1997; 23(2):226-234.
- (227) Waring WS, Webb DJ, Maxwell SR. Systemic uric acid administration increases serum antioxidant capacity in healthy volunteers. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; 38(3):365-371.
- (228) Waring WS, Convery A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell SR. Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clin Sci (Lond)* 2003; 105(4):425-430.
- (229) Gackowski D, Banaszkiwicz Z, Rozalski R, Jawien A, Olinski R. Persistent oxidative stress in colorectal carcinoma patients. *Int J Cancer* 2002; 101(4):395-397.
- (230) Marra G, Cotroneo P, Pitocco D, Manto A, Di Leo MA, Ruotolo V et al. Early increase of oxidative stress and reduced antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes: a case for gender difference. *Diabetes Care* 2002; 25(2):370-375.
- (231) Leinonen JS, Ahonen JP, Lonrot K, Jehkonen M, Dastidar P, Molnar G et al. Low plasma antioxidant activity is associated with high lesion volume and neurological impairment in stroke. *Stroke* 2000; 31(1):33-39.



- (232) Chamorro A, Obach V, Cervera A, Revilla M, Deulofeu R, Aponte JH. Prognostic significance of uric acid serum concentration in patients with acute ischemic stroke. *Stroke* 2002; 33(4):1048-1052.
- (233) Kovar KA, el Bolkinny MN, Rink R, Hamid MA. An enzymatic assay for the colorimetric and fluorimetric determination of uric acid in sera. *Arch Pharm (Weinheim)* 1990; 323(4):235-237.
- (234) Draper HH, Squires EJ, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic Biol Med* 1993; 15(4):353-363.
- (235) Paul A, Troidl H, Peters S, Stuttmann R. Fatal intestinal ischaemia following laparoscopic cholecystectomy. *Br J Surg* 1994; 81(8):1207.
- (236) Koivusalo AM, Kellokumpu I, Ristkari S, Lindgren L. Splanchnic and renal deterioration during and after laparoscopic cholecystectomy: a comparison of the carbon dioxide pneumoperitoneum and the abdominal wall lift method. *Anesth Analg* 1997; 85(4):886-891.

