



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ

ΕΡΕΥΝΗΣ, «Ν.Σ ΧΡΗΣΤΕΑΣ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Δ. ΠΕΡΡΕΑ

“ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΗΨΗΣ ΜΕΤΑΞΥ

ΛΑΠΑΡΟΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΗΣΗΣ ΣΕ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ”

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Δρ. ΚΑΡΑΝΤΩΝΗΣ ΦΩΤΙΟΣ - ΦΙΛΙΠΠΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2014

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Κωστάκης Αλκιβιάδης, Καθηγητής
Περρέα Δέσποινα, Καθηγήτρια (επιβλέπον μέλος)
Νικητέας Νικόλαος, Αν. Καθηγητής**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ

ΕΡΕΥΝΗΣ, «Ν.Σ ΧΡΗΣΤΕΑΣ»

20-02-2004: αίτηση για τον ορισμό τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

22-03-2004: ορισμός τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

28-04-2004: ορισμός θέματος Διδακτορικής Διατριβής

15-04-2005: υποβολή 1^{ης} έκθεσης προόδου

02-08-2006: υποβολή 2^{ης} έκθεσης προόδου

18-07-2013: υποβολή 3^{ης} έκθεσης προόδου

18-01-2013: αίτηση παράτασης του χρόνου εκπόνησης της Διδακτορικής Διατριβής

09-09-2013: ορισμός επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἱητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἵστορας ποιεύμενος, ἐπιτελέα ποιήσιν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν ὄρκον τόνδε καὶ συγγραφὴν τήνδε. Ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ αὐτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ συγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λουπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσι τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοις τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἱητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἶρξειν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι συμβουλίην τοιήνδε. Ὅμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνῶς δὲ καὶ ὁσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὁκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισιῶν ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρώων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἦ ἴδω, ἦ ἀκούσω, ἦ καὶ ἄνευ θεραπιῆς κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἡγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ συγχέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιорκοῦντι, τάναντία τουτέων

Αφιερώνεται στους γονείς μου Αποστόλη και Κωνσταντίνα, στη σύζυγό μου
Τάνια και στα παιδιά μου Κωνσταντίνα και Ξένια

Θέλω να ευχαριστήσω θερμά τα μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: τον Καθηγητή κ Αλκιβιάδη Κωστάκη, την Καθηγήτρια κα Δέσποινα Περρέα και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ Νικόλαο Νικητέα για την επιστημονική καθοδήγηση που μου παρείχαν κατά την διάρκεια της πολυετούς αυτής εργασίας. Επίσης τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ευάγγελο Γιαμαρέλο-Μπουρμπούλη για την ανεκτίμητη συμβολή του αλλά και την παραχώρηση χώρου και χρόνου στο Ερευνητικό Εργαστήριο Λοιμώξεων και Αντιμικροβιακής Θεραπείας της Δ' Παθολογικής Κλινικής του Αττικού Νοσοκομείου. Τους εργαζόμενους του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης, «Ν.Σ ΧΡΗΣΤΕΑΣ» κ Παναγιώτη Τσακιρόπουλο Νικόλαο Τσακιρόπουλο, Εσμεράλντα Ντούση, και την κτηνίατρο κ Άλκηστις Παντοπούλου. Τέλος, ευχαριστώ τον Επιστήμονα Πληροφορικής κ Ιωάννη Βλάχο για την συνεισφορά του στην στατιστική επεξεργασία των δεδομένων.

Βιογραφικό Σημείωμα

Όνομα: Φώτιος-Φίλιππος

Επίθετο: Καραντώνης

Ημερ. γέν: 1977/11/14

Διευθ: Δαβάκη 100 και Κρήτης, Παιανία, 19002

fkarant@med.uoa.gr ,

tel: +30-210-9316-465

Εκπαίδευση

1995: Λύκειο Κολλέγιο Αθηνών

1995-2001: Πτυχίο Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου του Βελιγραδίου

2002: Αναγνώριση πτυχίου ΔΙΚΑΤΣΑ

2004-: Υποψήφιος Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Αθηνών

2006/01/17-2006/02/24: Παρακολούθηση Ενέργειας Επαγγελματικής Κατάρτισης «Σχεδιασμός Αρχών Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας σε Αστικές Περιοχές και Ανοιχτούς κοινόχρηστους χώρους στα Πλαίσια Εφαρμογής Πολιτικών Έκτακτης Ανάγκης και Ασφάλειας»

2006-2008: Μεταπτυχιακός Φοιτητής Ιατρικής Σχολής Αθηνών «Ελάχιστα Επεμβατική Χειρουργική, Ρομποτική Χειρουργική και Τηλεχειρουργική»
M.Sc.

Επαγγελματική Εμπειρία

2002/09-2004/05: Ιατρός Υπόχρεος Υπηρεσίας Υπαίθρου στο ΓΝΝ Κέρκυρας,
Κ.Υ Αγ. Μάρκου και Π.Ι. Γυμαρίου

2006/01/16-2006/07/17: Ειδικευόμενος Γενικής Χειρουργικής στη Μονάδα
Μεταμόσχευσης Νεφρού και Χειρουργικής Νεφροπαθών του ΓΝΑ Λαϊκό

2006/07/18-2007/11/21: Ειδικευόμενος Γενικής Χειρουργικής στη Β' Προπ.
Χειρουργική Κλινική του ΓΝΑ Λαϊκό

2008/06/11-2008/11/13: Ειδικευόμενος Γενικής Χειρουργικής στο Ναυτικό
Νοσοκομείο Σαλαμίνας

2008/05- Τρέχουσα Θέση: Επιστημονικός Συνεργάτης Πανεπιστημιακής
Κλινικής Πλαστικής Χειρουργικής

25/10/2013- Τρέχουσα Θέση: Ειδικευόμενος Πλαστικής Χειρουργικής
Κλινικής Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών

Στρατιωτική Θητεία: Ελληνικό Πολεμικό Ναυτικό

Κλινικές Μελέτες και χρηματοδοτούμενα ερευνητικά προγράμματα :

2004 «ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II-Ενίσχυση Ερευνητικών Ομάδων στα Πανεπιστήμια» Υπουργείου Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων. Ειδική Υπηρεσία Διαχείρισης Επιχειρησιακού Προγράμματος Εκπαίδευση και Αρχική Επαγγελματική Κατάρτιση (Ε.Π.Ε.Α.Ε.Κ II). Θέμα: Αναγνώριση προτύπων και ανακάλυψη γνώσεων σε ιατρικά πειραματικά δεδομένα. Εφαρμογή στην πρόγνωση της αθηρωμάτωσης, μέσω των νεότερων βιοχημικών παραμέτρων μη επεμβατικών εξετάσεων και τεχνολογιών μηχανικής μάθησης. Ανάπτυξη και υλοποίηση πρότυπου εκπαιδευτικού λογισμικού εξειδίκευσης ερευνητών στο χώρο της αθηρωμάτωσης.

2013 -Κλινική μελέτη εταιρείας Birken: Υπεύθυνος εκπόνησης της Κλινικής Μελέτης στο τμήμα Πλαστικής Χειρουργικής του νοσοκομείου Α. Συγγρός, υπό τα μέλη ΔΕΠ Στρατηγό Α. και Παπαδόπουλο Ο.

2013- Επιτυχές «Audit» που αφορά την Κλινική Μελέτη της εταιρείας Birken από ανεξάρτητη εμπειρογνώμονα

Δημοσιεύσεις

Karantonis F., Nikiteas N., Giamarellos E., Poulakou M., Pantopoulou A., Tsigris C., Perrea D., Kostakis A. "Experimental Model of Intraabdominal Sepsis" (poster) Greek College of Surgery, Hellenic Congress and International Symposium, Athens 2006

Karantonis F., Nikiteas N., Giamarellos-Bourboulis E., Poulakou M., Pantopoulou A., Tsaganos T., Tsigris C., Giamarellou E., Perrea D., Kostakis A. "Survival Study in an experimental model of abdominal sepsis. Comparative study of the effects of laparotomy vs laparoscopy" (oral presentation) 25th Hellenic Surgical Congress Athens Greece 2006

Papachristodoulou A., Karantonis F., Stamatakis M., Nikiteas N., Kouraklis G., Safioleas M., Kostakis A. "Advantages of the tension free technique in treating inguinal hernia (poster) Greek College of Surgery Hellenic Congress and International Symposium, Athens Greece 2007

F. Karantonis, D. Mantas, N. Nikiteas, E. Giamarellos, D. Perrea A study on the survival of an experimental model with intraabdominal sepsis undergoing laparoscopy vs laparotomy (oral presentation) Eur Surg Res 2007;39:1-63 (DOI:10.1159/000102622), 42nd Congress of the European Society for Surgical Research

Karantonis FFA, Nikiteas N, Perrea D, Vlachou AS, Giamarellos-Bourboulis EJ, Tsigris C, Kostakis A. "Evaluation of the effects of laparotomy and laparoscopy on the immune system in intra-abdominal sepsis" J Invest Surg. 2008 Nov-Dec;21(6):330-9.

Καραντώνης Φ., Κωστόπουλος Ε., Χάμψας Γ., Δούναβης Α., Φραγκούλης Μ., Παπαδόπουλος Ο. Το μελάνωμα των βλεφάρων 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μελανώματος 13-15 Ιανουαρίου 2011, Αθήνα (oral presentation)

Konofaos P. Karypidis D. Kostopoulos E. , Champsas G. , Karantonis F. , Kouraklis G. , Papadopoulos O. COMPARISON OF THE PLATYSMA AND SUBMENTAL MUSCULOCUTANEOUS FLAPS 9th Pan Hellenic (National) Congress of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery Congress, 29-30 August 2011, Kos Island Greece

Fotios-Filippos KARANTONIS, Georgios DRIMOURLAS, Avraam DOUNAVIS, Epaminondas KOSTOPOULOS, Grigorios CHAMPSAS, Othon PAPADOPOULOS, Athens, Greece. Is the surgeon a risk factor when nasal skin epitheliomas are inadequately excised? European Association of Plastic Surgeons (EURAPS) Meeting 2012 Munich, Germany (oral presentation)

D. Karypidis, P. Konofaos, E. Kostopoulos, G. Champsas, M. Frangoulis, A. Dounavis, F. Karantonis, A. Kostakis and O. Papadopoulos. Diabetic foot disease: Surgery and multidisciplinary treatment. Hellenic Journal of Surgery Volume 84, Number 1 (2012), 26-40, DOI: 10.1007/s13126-012-0002-4

Sklavou R, Karavanaki K, Critselis E, Kossiva L, Giannaki M, Tsolia M, Papadakis V, Papargyri S, Vlachou A, Karantonis F, Gourgiotis D, Polychronopoulou S.

Variation of serum C-reactive protein (CRP) over time in pediatric cancer patients with febrile illness and its relevance to identified pathogen. Clin Biochem. 2012 Oct;45(15):1178-82.

Psathas E, Lioudaki S, Karantonis FF, Charalampoudis P, Papadopoulos O, Klonaris C. Management of a complicated ruptured infected pseudoaneurysm of the femoral artery in a drug addict. Case Rep Vasc Med. 2012;2012:434768.

Guida A, Kouloulis V, Kouvaris J, Mosa E, Georgakopoulos J, Platoni K, Papadopoulos O, Papadavid E, Zygiogianni A, Rigoppoulos D, Antypas C, Beli I, Karantonis F, Kelekis N. Efficacy, cosmesis and skin toxicity in a hypofractionated irradiation schedule for cutaneous basal cell carcinoma of the head and neck area. Head Neck Oncol. 2012 Dec 21;4(5):88.

Loupatatzi A, Stavrianos SD, Karantonis FF, Machairas A, Rapidis AD, Kokkalis G, Papadopoulos O. Are Females Predisposed to Complications in Head and Neck Cancer Free Flap Reconstruction? J Oral Maxillofac Surg. 2013

Jul 11. doi:pii: S0278-2391(13)00519-3. 10.1016/j.joms.2013.05.013. [Epub ahead of print]

Kouloulas V, Papadavid E, Mosa E, Platoni K, Papadopoulos O, Rigopoulos D, Georgakopoulos J, Beli I, Karantonis F, Castana O, Dalamaga M, Kelekis N. A new hypofractionated schedule of weekly irradiation for basal cell carcinoma of the head and neck skin area in elderly patients. Dermatol Ther. 2013 Aug 6. doi: 10.1111/dth.12082. [Epub ahead of print]

Reviewer στα κάτωθι Ιατρικά Διεθνή Περιοδικά

Clinics

Surgical Laparoscopy, Endoscopy & Percutaneous Techniques (Surg Lap Endosc Percut Tech)

Γνώσεις H/Y: Χρήστης MS Windows 98, XP, Vista operating systems, MS office and SPSS applications

Γλώσσες: Αγγλική, Σουηδική, Σερβοκροατική

Περιεχόμενα

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	16
«ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΗΨΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΛΑΠΑΡΟΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΗΣΗΣ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ»	16
Η ΠΕΡΙΤΟΝΑΙΚΗ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ	17
Η ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΕΡΙΤΟΝΑΙΟΥ ΣΤΟ ΤΡΑΥΜΑ	21
Τραυματισμός και Επιδιόρθωση του Περιτοναίου	21
Δημιουργία Συμφύσεων.....	21
Αμυντικοί Μηχανισμοί κατά των Ενδοκοιλιακών Λοιμώξεων.....	23
ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΕΝΔΟΚΟΙΛΙΑΚΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ (περιοχικών-συστηματικών).....	23
Κυτταρική Άμυνα στην Περιτονίτιδα	23
Οι μηχανισμοί επιστράτευσης κυττάρων σε σημεία τραυματισμού.....	29
Σηψαιμία - σηπτική καταπληξία και Περιτονίτιδα	39
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΠΕΡΙΤΟΝΙΤΙΔΑΣ.....	44
Περιτονίτιδα με έγχυση λιποπολυσακχαριτών (LPS).....	46
Έγχυση διαλύματος κοπράνων.....	47
Μοντέλο προκαθορισμένου ποσοτικά και ποιοτικά βακτηριακού φορτίου	48
Μοντέλα ενδογενούς περιτονίτιδας	50
Η επίδραση του πνευμοπεριτοναίου στην σήψη ενδοκοιλιακής προέλευσης	53
Πνευμοπεριτόναιο-Καρβοπεριτόναιο και βακτηριακή αλλόθεση	54
Λαπαροτομία, λαπαροσκόπηση και το ανοσοποιητικό σύστημα	56
Η επίδραση της λαπαροτομίας και της λαπαροσκόπησης στο ανοσοποιητικό σύστημα μη σηπτικών ζωικών προτύπων	56
Η επίδραση της λαπαροτομίας και της λαπαροσκόπησης στο ανοσοποιητικό σύστημα σήψης ενδοκοιλιακής αιτιολογίας σε ζωικά πρότυπα	59
Κλινικές και πειραματικές μελέτες και αξιολόγηση της λαπαροσκόπησης στην ενδοκοιλιακή σήψη	61
Αντικείμενο και στόχοι του έργου	70

Αναλυτική επεξήγηση του τρόπου αξιοποίησης των αποτελεσμάτων του ερευνητικού έργου και αναμενόμενα οφέλη.....	70
Ορισμός Σήψης και Σηπτικής Καταπληξίας	73
Κριτήρια σήψης.....	74
Οι εκδηλώσεις της σήψης στα ζωτικά όργανα	75
Πνευμονικές εκδηλώσεις	75
Καρδιοαγγειακές εκδηλώσεις	76
Νεφρικές εκδηλώσεις.....	77
Γαστρεντερικό σύστημα	78
Εκδηλώσεις από το Αιμοποιητικό σύστημα	79
Ηπατική δυσλειτουργία.....	79
Οξεοβασική ισορροπία.....	79
Φλεγμονώδης αντίδραση του οργανισμού και απάντηση στη σήψη	80
IL-1.....	80
IL-6.....	81
TNF-α.....	83
IL-10.....	84
IL-12.....	87
E-Cadherin	87
IL-18.....	88
MCP-1.....	89
Κορτιζόλη	93
Προκαλσιτονίνη.....	94
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)	94
Σήψη και οξειδωτικό στρες	94
Διαταραχές του πηκτικού μηχανισμού	96
Σήψη και απόπτωση	97

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΣΚΕΛΟΥΣ	100
Επιλογή Βακτηρίου για την πρόκληση περιτονίτιδας μετά από Πειραματισμό με στελέχη E. coli και Pseudomonas aeruginosa σε διαφορετικά επίπεδα μονάδων σχηματισμού αποικιών CFU	100
Pseudomonas aeruginosa.....	102
Ταξινόμηση.....	102
Περιγραφή.....	103
Καλλιέργεια	103
Ιδιότητες.....	104
Παθογένεια	105
ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΕΡΙΤΟΝΙΤΙΔΑΣ ΜΕ ΧΕΙΡΙΣΜΟΥΣ ΛΑΠΑΡΟΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΗΣΗΣ	107
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΛΕΤΗΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ	112
ΜΕΛΕΤΗ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ MCP-1 και IL-18 ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΕΡΙΤΟΝΙΤΙΔΑΣ ΚΑΙ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΗΣΗΣ Η ΛΑΠΑΡΟΤΟΜΙΑΣ	118
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΕΚΤΕΛΕΣΗΣ	119
Παράμετροι προς αξιολόγηση αποτελέσματα και στατιστική ανάλυση	122
Στατιστική Ανάλυση	122
Αποτελέσματα MCP-1	128
Αποτελέσματα MCP-1	129
Συμπέρασμα Διατριβής.....	131
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	136
Λέξεις κλειδιά: πνευμοπεριτόναιο, λαπαροσκόπηση, λαπαροτομή, περιτονίτιδα, σήψη	136
COMPARATIVE EXPERIMENTAL MODEL FOR THE EVALUATION OF SEPSIS ON LAPAROTOMY VS SEPSIS ON LAPAROSCOPY	142
Key words: pneumoperitoneum, laparoscopy, laparotomy, peritonitis, sepsis.....	142
ABSTRACT	142
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	145

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΤΙΤΛΟΣ

**«ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΗΨΗΣ ΜΕΤΑΞΥ
ΛΑΠΑΡΟΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΗΣΗΣ ΣΕ
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ»**

Η ΠΕΡΙΤΟΝΑΙΚΗ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ

Η περιτοναϊκή κοιλότητα περιγράφηκε λεπτομερώς πρώτη φορά από τον James Douglas το 1730. Το περιτόναιο είναι ένας ορογόνος υμένας, ο οποίος επενδύει το εσωτερικό τοίχωμα της κοιλιάς και τα όργανα που εδράζονται μέσα της. Πρόκειται περί ενός κλειστού σάκου, που επικοινωνεί στις γυναίκες με το εξωτερικό περιβάλλον δια των σαλπίγγων. Τα όργανα που επενδύονται πλήρως από περιτόναιο ονομάζονται ενδοπεριτοναϊκά. Το τμήμα του περιτοναίου που καλύπτει τα ενδοπεριτοναϊκά όργανα καλείται σπλαγχνικό, ενώ το τμήμα του περιτοναίου που καλύπτει το τοίχωμα της κοιλιάς ονομάζεται τοιχωματικό περιτόναιο. Η ανάκαμψη του τοιχωματικού πετάλου στο περισπλάχνιο δημιουργεί τους συνδέσμους των σπλάχνων που χρησιμεύουν για τη στήριξη τους και σε περίπτωση φλεγμονής για τον περιορισμό της. Τέτοιες αναδιπλώσεις είναι το μεσεντέριο, το μεσόκολο, οι σύνδεσμοι του στομάχου και του ήπατος. Αν και το σπλαγχνικό και το τοιχωματικό περιτόναιο αποτελούν μέρη της ίδιας μεμβράνης, εντούτοις η διάκρισή τους έχει σημασία λόγω της διαφορετικής αισθητικής νεύρωσης που έχουν.

Η περιτοναϊκή κοιλότητα διαιρείται στην κυρίως περιτοναϊκή κοιλότητα και τον ελάσσονα επιπλοϊκό θύλακο, ο οποίος συνδέεται με την κυρίως περιτοναϊκή κοιλότητα με το τμήμα του Winslow. Ο ελάσσων επιπλοϊκός θύλακος σχηματίζεται μπροστά από το γαστροηπατικό σύνδεσμο,

το στόμαχο και το γαστροκολικό σύνδεσμο και πίσω από το οπίσθιο τοιχωματικό περιτόναιο.

Η διαμερισματοποίηση της περιτοναϊκής κοιλότητας από τους διάφορους συνδέσμους δημιουργεί θύλακες στους οποίους μπορεί να κατακρατηθεί υγρό ή εξίδρωμα. Αυτές οι περιοχές είναι οι παρακολικές αύλακες, πέριξ του ήπατος, ο θύλακας του Morrison και η πύελος. Ανάλογα με την πηγή μιας περιτονίτιδας αλλά και την θέση του ασθενούς τα υγρά τείνουν να συσσωρεύονται σε κάποιο από τα παραπάνω σημεία. Είναι πολύ συχνό να παρατηρείται περιχαράκωση μιας φλεγμονής ή η δημιουργία αποστήματος στις παραπάνω ανατομικές θέσεις.

Η νεύρωση του περιτοναίου μας βοηθά κλινικά στην εντόπιση μιας ενδοκοιλιακής φλεγμονής. Η πλειοψηφία των νευρικών απολήξεων βρίσκεται στο τοιχωματικό παρά στο σπλαγχνικό περιτόναιο. Οι νευρικές απολήξεις του σπλαγχνικού περιτοναίου ξεκινούν από το υποκείμενο σπλάγχνο και είναι τελικές απολήξεις του πνευμονογαστρικού νεύρου. Είναι περισσότερο ευαίσθητες στη διάταση οπότε και δημιουργείται αίσθημα ναυτίας και διάχυτου μη καλώς εντοπιζόμενου πόνου στον ασθενή. Το αίσθημα πόνου ανάλογα το πάσχων όργανο εντοπίζεται σε αντίστοιχο δερμοτόμιο. Για παράδειγμα η χολοκυστίτιδα θα δημιουργήσει αίσθημα πόνου στο επιγάστριο, δεξι υποχόνδριο και δεξιά άνω ράχη. Σε αντίθεση με το σπλαγχνικό περιτόναιο το τοιχωματικό είναι εξαιρετικά ευαίσθητο σε περισσότερα ερεθίσματα, συμπεριλαμβανομένων της πίεσης, της διάτασης και

του νυγμού. Η εντόπιση του πόνου είναι σαφέστερη και πολλές φορές εμφανίζονται χάρις στο τοιχωματικό περιτόναιο τα κλινικά σημεία της περιτονίτιδας.

Η μικροσκοπική δομή του περιτοναίου συνίσταται επιφανειακά από μια στιβάδα μεσοθηλιακών κυττάρων, κάτω από την οποία υπάρχει μια στιβάδα συνδετικού ιστού που περιέχει ίνες κολλαγόνου, ελαστικές ίνες, δικτυοκύτταρα και μακροφάγα. Η έκταση της επιφάνειας του περιτοναίου είναι περίπου 2 m² και περιέχει 75 με 100 ml καθαρού υγρού, το οποίο διευκολύνει τις φυσιολογικές λειτουργίες του περιτοναίου. Το περιτόναιο δρα σαν μια ημιδιαπερατή μεμβράνη που επιτρέπει την αμφίδρομη μεταφορά ύδατος, ηλεκτρολυτών, πεπτιδίων και άλλων μορίων με ρυθμό έως και 500ml/ώρα. Η ταχεία απορρόφηση των τοξινών που παράγονται σε μια ενδοκοιλιακή φλεγμονή είναι ένας από τους λόγους της υψηλής θνησιμότητας σε περιτονίτιδα. Φυσιολογικά το περιτοναϊκό υγρό είναι διίद्रωμα με ειδικό βάρος 1016, λεύκωμα λιγότερο από 3 gr/100ml και περιέχει 2000 με 2500 κύτταρα/mm³. Τα περισσότερα κύτταρα είναι μακροφάγα και λιγότερα μεσοθηλιακά και λεμφοκύτταρα. [1]

Τα μεσοθηλιοκύτταρα χωρίζονται σε δυο κατηγορίες: τα κυβοειδή και τα επίπεδα. Τα στόματα μεταξύ των μεσοθηλιοκυττάρων βρίσκονται μόνο μεταξύ των κυβοειδών κυττάρων και στην περιτονίτιδα αυτά διευρύνονται. Υπό την στιβάδα των μεσοθηλιακών κυττάρων βρίσκεται η βασική μεμβράνη αποτελούμενη από ίνες κολλαγόνου η οποία είναι διαπερατή σε μόρια

μικρότερα των 30 kD. Το περιτοναϊκό υγρό, το οποίο έχει τις ιδιότητες της λέμφου, περνά δια μέσω του θωρακικού πόρου στην κυκλοφορία του αίματος και κατά τον ίδιο τρόπο μπορούν βακτήρια και τοξίνες να διαχυθούν στην συστηματική κυκλοφορία. Κατά την εισπνοή δημιουργείται διαφορά ενδοθωρακικής και ενδοκοιλιακής πίεσης η οποία ευνοεί την απορροή περιτοναϊκού υγρού από την κοιλιά προς τον θώρακα. Η εισροή τοξινών στην κυκλοφορία του αίματος δημιουργεί πολλά από τα προβλήματα όπως η αιμοδυναμική αστάθεια και η αναπνευστική ανεπάρκεια που εμφανίζονται σε προχωρημένη σήψη.

Η ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΕΡΙΤΟΝΑΙΟΥ ΣΤΟ ΤΡΑΥΜΑ

Τραυματισμός και Επιδιόρθωση του Περιτοναίου

Κάθε φλεγμονή του περιτοναίου οδηγεί στην απώλεια τοπικά μεσοθηλιακών κυττάρων. Το έλλειμμα στη μεσοθηλιακή στιβάδα αποκαθίσταται με την “μετάσταση” γειτονικών μεσοθηλιακών κυττάρων. Τα ελλείμματα στο περιτόναιο αποκαθίστανται με τον ίδιο ρυθμό ασχέτως μεγέθους συνήθως σε 3 με 5 ημέρες.

Δημιουργία Συμφύσεων

Ο πολυμερισμός ινικής συμβαίνει όταν ινική και αιμοπετάλια έρχονται σε επαφή με τη βασική μεμβράνη. Φυσιολογικά ο καλά αιματούμενος ιστός παράγει ενεργοποιητή του πλασμινογόνου tPA ο οποίος λύει και τους θρόμβους ινικής. Η ινωδολυτική δραστηριότητα είναι στο ελάχιστο μέχρι και την 3 ημέρα ενώ έρχεται στο μέγιστο κατά την 8η ημέρα. Σε κατάσταση υποξίας οι συμφύσεις αποικίζονται με ινοβλάστες και προωθείται η αγγειογένεση και η σύνθεση κολλαγόνου. Οι συμφύσεις ινικής εμφανίζονται τη 10η ημέρα και μεγιστοποιείται το φαινόμενο κατά τη 2 με 3 εβδομάδα και εκεί αποδίδεται η δυσκολία επανεπέμβασης κατά τη 2η με 4η εβδομάδα από την αρχική προσβολή, ενώ με την πάροδο του χρόνου οι συμφύσεις υφίστανται ιστική αναδιαμόρφωση και εξαλείφονται.



Εικόνα 1: Συμφύσεις στο τοιχωματικό περιτόναιο

Αμυντικοί Μηχανισμοί κατά των Ενδοκοιλιακών Λοιμώξεων

Οι τρεις κύριοι περιτοναϊκή μηχανισμοί κατά των λοιμώξεων είναι: 1) μηχανικός καθαρισμός των βακτηρίων δια μέσω της λεμφικής οδού 2) φαγοκυτταρική δραστηριότητα των κυττάρων του ανοσοποιητικού 3) περιχαράκωση της φλεγμονής.

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΕΝΔΟΚΟΙΛΙΑΚΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ (περιοχικών-συστηματικών)

Η κυτταρική απάντηση στα βακτήρια περιλαμβάνει τα ιστικά μακροφάγα κύτταρα καθώς και πληθώρα επιστρατεύσιμων κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων. Η φαγοκύτωση μικροοργανισμών από αυτά τα κύτταρα οδηγεί στην παραγωγή προφλεγμονωδών μορίων τα οποία συμβάλλουν στη συστηματική απάντηση του πάσχοντος οργανισμού. Επιπρόσθετα η δημιουργία ινικής-συμφύσεων και ο ειλεός είναι τρόποι περιορισμού και διαμερισματοποίησης μιας σηπτικής εστίας.

Κυτταρική Άμυνα στην Περιτονίτιδα

Κατά κύριο λόγω 4 είδη κυττάρων διαδραματίζουν ουσιώδη ρόλο στην περιτονίτιδα. Αυτά είναι τα τοπικά ιστικά αλλά και κυκλοφορούντα μακροφάγα, τα μεσοθηλιακά κύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα των

τριχοειδών αγγείων του περιτοναίου και τα επιστρατευμένα μονοκύτταρα. Αν και τα μακροφάγα θεωρούνται παραδοσιακά η άμυνα πρώτης γραμμής κατανοούμε όλο και καλύτερα τον αλληλένδετο ρόλο όλων των παραπάνω κυττάρων. Το πρώτο συμβάν κατά την μόλυνση της περιτοναϊκής κοιλότητας είναι η αντίδραση του οργανισμού στα μικροβιακά παράγωγα για τα Gram(-) οι λιποπολυσακχαρίτες (LPS) ενώ για τα Gram(+) τα παράγωγα τεϊχοϊκό οξύ και διάφορες γλυκάνες της βακτηριακής μεμβράνης προκαλούν την αντίδραση των μακροφάγων κυττάρων. Η LPS των Gram(-) επιδρά στα μονοκύτταρα και όχι μόνο συμπεριλαμβανομένων υπο-πληθυσμών των ουδετερόφιλων κυττάρων μέσω του υποδοχέα CD14. Για την αλληλεπίδραση με τον υποδοχέα CD14 διαμεσολαβεί η δεσμευτική πρωτεΐνη των λιποπολυσακχαρίτων (LBP). Κατά αυτόν τον τρόπο ενεργοποιούνται τα μακροφάγα, τα οποία παράγουν τον παράγοντα νέκρωσης όγκων -α (TNF-α), ιντερλευκίνες (IL) 1,-6, -8 , παράγοντα ενεργοποίησης κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF), προσταγλανδίνη E2 (PGE2) και νιτρικό οξείδιο. Η LPS είναι ισχυρός ανοσο-ρυθμιστής καθώς συγκεντρώσεις μερικών pg/ml προκαλούν μέγιστες κυτταρικές αντιδράσεις.

Μακροφάγα

Τα κυκλοφορούντα μακροφάγα καθώς και τα ιστικά μακροφάγα της περιτοναϊκής κοιλότητας αποτελούν την άμυνα πρώτης γραμμής και συντονίζουν τη φλεγμονώδη αντίδραση. Παράγωγα των μακροφάγων

αποτελούν : IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF-α, GM-CSF, και granulocyte colony stimulating factor (G-CSF), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), monocyte inflammatory protein-α (MIP-α), και διάφορα εικοσανοειδή. Τα παραπάνω μόρια ενεργοποιούν τα μεσοθηλιακά κύτταρα. Στους μηχανισμούς μικροβιοκτόνου δράσης των μακροφάγων περιλαμβάνεται η ιδιότητά τους να εξωκυττώνουν πρωτεολυτικά ένζυμα όπως τα παρακάτω: plasminogen activator, collagenase, elastase, gelatinase, acid phosphatase και cathepsin-D.

Μεσοθηλιακά κύτταρα

Τα παράγωγα των μακροφάγων, τα βακτήρια και τα παράγωγά τους τραυματίζουν και ενεργοποιούν τα μεσοθηλιακά κύτταρα. Με την σειρά τους τα μεσοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν IL-8 και ένα μόριο το οποίο επιστρατεύει και ενεργοποιεί τα ουδετερόφιλα. Επιπλέον τα μεσοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν ουσίες που προωθούν την επικόλληση λευκοκυττάρων επάνω σε αυτά.

Ουδετερόφιλα

Τα ουδετερόφιλα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη καταστροφή παρεγχύματος που παρατηρείται στην φλεγμονή. Παράγουν σωρεία ενζύμων που λύνουν πρωτεΐνες της βασικής μεμβράνης προωθώντας την απευθείας μετανάστευση κυττάρων και την φαγοκύττωση του προσβεβλημένου ιστού. Οι

πρωτεάσες των ουδετερόφιλων επίσης μπορούν να λύουν ανοσοσφαιρίνες και πρωτεΐνες του συμπληρώματος. Επιπροσθέτως τα ουδετερόφιλα περιέχουν στα κοκκία τους τον παράγοντα Bactericidal Permeability Increasing factor (BPI). Ο BPI προσδένει στην LPS με αποτέλεσμα αυτή να μην μπορεί να αλληλεπιδράσει με τον υποδοχέα CD14 και έτσι καταστέλλει την τοξική δράση της LPS. Ακόμη, ο BPI έχει απευθείας κυτταροτοξική δράση έναντι των Gram(-) βακτηρίων. Η βακτηριοκτόνος δράση των ουδετερόφιλων ενισχύεται από την δυνατότητά τους να παράγουν μέσω της NADPH οξειδάσης υπεροξείδιο του υδρογόνου. Τα ουδετερόφιλα εκκρίνουν TNF- α , IL-1 και IL-8 οι οποίες ενεργοποιούν και επιστρατεύουν περαιτέρω κύτταρα προς την φλεγμονή, ενώ είναι ιδιαίτερος ευαίσθητα στον TNF- α , IL-1 β , IL-6 και IL-8. Για να ολοκληρωθεί η διαδικασία της λύσης των βακτηρίων πρέπει μετά την οψωνοποίηση του μικροοργανισμού να φαγοκυττωθεί από ένα ουδετερόφιλο. Στη συνέχεια το φαγόσωμα το οποίο περιέχει το βακτήριο έρχεται σε επαφή με κοκκία που περιέχουν λυσοζύμη. Όταν στο κυτταρικό περιβάλλον υπάρχει οξυγόνο τότε παράγονται τοξικές ρίζες οι οποίες λύνουν τα βακτήρια. Στην περίπτωση που υπάρχουν ιστικά νεκρώματα, σηπτικό σοκ ή κάθε λόγος για τον οποίο δεν προσλαμβάνεται οξυγόνο στην φλεγμένους περιοχή και άρα τα ουδετερόφιλα βρίσκονται σε υποξικό περιβάλλον τότε παρότι τα βακτήρια φαγοκυττώνονται δεν υφίστανται λύση καθώς δεν μπορούν να παραχθούν οι απαραίτητες τοξικές για τα βακτήρια ελεύθερες ρίζες. Στην παραπάνω περίπτωση η λοίμωξη εμμένει ή μπορεί και να επιδεινωθεί.

Ενδοθηλιακά κύτταρα

Τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα και τα μεσοθηλιοκύτταρα παράγουν ουσίες οι οποίες τραυματίζουν το ενδοθήλιο οπότε και διευκολύνεται η μεταφορά και διάχυση περαιτέρω διαμεσολαβητών ενδαγγειακά. Με τη σειρά του το ενδοθήλιο μετά από τραυματισμό και μέσω των TNF- α , IL-1 και ελεύθερων ριζών παράγει προ-προ-φλεγμονώδη μόρια τα οποία προάγουν την σύζευξη λευκοκυττάρων και ενδοθηλίου. Το ενδοθήλιο μέσω της IL-8 και του (PAF) platelet activating factor ρυθμίζει την κινητικότητα και ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων κυττάρων.

Άλλα κύτταρα εμπλεκόμενα στη φλεγμονή

Πολλά επιπλέον κύτταρα επιστρατεύονται κατά την διάρκεια μιας φλεγμονής. Η ενεργοποίηση και η προσκόλληση των αιμοπεταλίων σε σημεία ιστικού τραυματισμού προάγει τη δημιουργία θρόμβων. Κατά τη φλεγμονή, πλειάδα μορίων παράγονται από τα αιμοπετάλια όπως η platelet basic protein και το πρωτεολυτικό παράγωγό της: η neutrophil activated peptide 2 η οποία είναι χημειοτακτική για τα ουδετερόφιλα. Περαιτέρω παράγουν PAF, tumor growth factor β (TGF- β), προσταγλανδίνες, θρομβωξάνη A2 (TXA2), lipoxin A4 (LXA4) και μονοξείδιο του αζώτου τα οποία ρυθμίζουν την φλεγμονώδη αντίδραση. Ακόμη, οι μυϊκές ίνες στα αγγεία καθώς και οι ινοβλάστες παράγουν κυτοκίνες οι οποίες επίσης διαδραματίζουν ρόλο στη φλεγμονή. Επιπλέον, τα λεμφοκύτταρα T και B συμβάλλουν με την

αναγνώριση αντιγόνων τα οποία παρουσιάζονται από τα μονοκύτταρα, τα επιθηλιοκύτταρα και τα ενδοθηλιοκύτταρα.

Οι μηχανισμοί επιστράτευσης κυττάρων σε σημεία τραυματισμού

Χημειοπροσέλκυση από μη-χημειοκίνες

Το συμπλήρωμα αποτελείται από πρωτεΐνες των οποίων ο πολυμερισμός καταλήγει στην ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης, στην απελευθέρωση μορίων φλεγμονής, στην προσέλκυση λευκοκυττάρων (C5a), στην οψωνινοποίηση μικροοργανισμών (C3b) και στην επαγωγή της λύσης μικροοργανισμών αλλά και κυττάρων του οργανισμού (membrane attack complex). Ο C5a επάγει την ενεργοποίηση, την προσκόλληση και τη συνάθροιση των πολυμορφοπύρηνων κυττάρων. Επίσης προάγει την παραγωγή TNF-α, IL-1 και IL-6 από τα μονοκύτταρα, ενώ στους πνεύμονες αυξάνει την αντίσταση των αγγείων και προκαλεί υποξαιμία. Επιπροσθέτως δρα συνεργικά με τον TNF-α και έτσι προκαλεί αιμορραγικές νεκρώσεις.

Άλλα κυτταρικά παράγωγα προσελκύουν κύτταρα στο περιτόναιο όπως η leukotriene B₄ (LTB₄), η formyl-methionyl-leucylphenylalanine (FMLP), και ο PAF. Η LTB₄ παράγεται από τα μακροφάγα και άλλα κύτταρα σε αντίδραση με λιποπολυσακχαρίδες (LPS). Η LTB₄ προάγει την χημειοτακτική στρατολόγηση των ουδετερόφιλων επάγει την συγκόλληση τους στο ενδοθήλιο, προωθεί την παραγωγή IL-1, IL-6 TNF-α και H₂O₂ από τα μονοκύτταρα και αυξάνει την διαπερατότητα των αγγείων. Η FMLP προέρχεται από το βακτηριακό τοίχωμα και προάγει τη χημειοταξία, την από-κοκκίωση, την παραγωγή υπεροξειδίων και την φαγοκύττωση των ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων.

Άλλο μόριο που προάγει την χημειοταξία των ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων είναι ο PAF, ο οποίος επάγει την παραγωγή υπεροξειδίου από ουδετερόφιλα στη επιφάνεια των ενδοθηλίων, αυξάνει την διαπερατότητα των ενδοθηλιοκυττάρων, των αγγείων, προάγει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων και την παραγωγή εικοσανοειδών. Η απελευθέρωση PAF από το ενδοθήλιο επάγεται από τον TNF- α , IL-1, LPS, θρομβίνη, phorbol myristate acetate, ισταμίνη, λευκοτριένια και ελεύθερες ρίζες. [2]

Χημειοκίνες

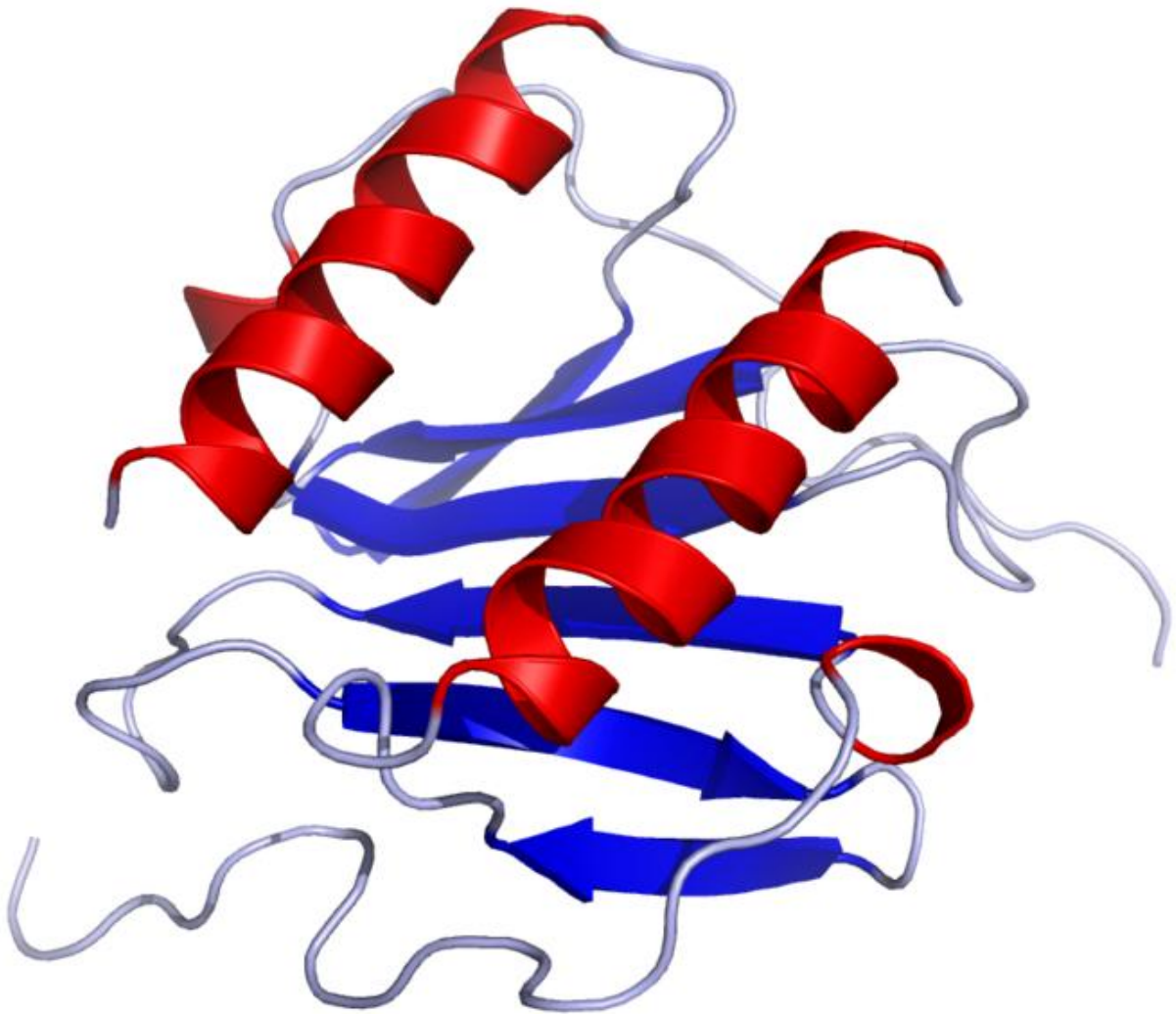
Οι χημειοκίνες είναι μια οικογένεια μικρών κυττοκινών. Όπως προϊδεάζει το όνομά τους προάγουν τη χημειοταξία σε παραπλήσια ευαίσθητα κύτταρα, οπότε μπορούν και να ονομαστούν χημειοτακτικές κυττοκίνες. Οι πρωτεΐνες αυτές κατηγοριοποιούνται ως κυττοκίνες βάσει των παρακάτω χαρακτηριστικών. Είναι όπως προαναφέρθηκε μικρές σε μέγεθος πρωτεΐνες 8-10 kilodalton (kDa) και παρουσιάζουν 4 κατάλοιπα (residues) κυστεΐνης σε θέσεις που αποτελούν το κλειδί για τον τρισδιάστατο σχηματισμό τους. Ιστορικά πρέπει να αναφερθεί ότι είναι γνωστές και ως SIS family of cytokines, SIG family of cytokines, SCY family of cytokines, Platelet factor-4 superfamily ή intercrines. Κάποιες χημειοκίνες θεωρούνται προφλεγμονώδεις και επάγονται σε μια ανοσολογική απάντηση του οργανισμού σε μια λοίμωξη, ενώ άλλες προάγουν την ομοιόσταση και ελέγχουν τη μετανάστευση κυττάρων σε φυσιολογικές λειτουργίες όπως στην

αποκατάσταση – αναγέννηση των ιστών και στην ανάπτυξη. Η βιολογική τους δράση προάγεται μέσω της αλληλεπίδρασης με υποδοχείς κυτταρικής μεμβράνης συνδεδεμένους με πρωτεΐνη G που αποκαλούνται υποδοχείς χημειοκινών που βρίσκονται εκλεκτικά στις επιφάνειες των κυττάρων στόχων.

Οι χημειοκίνες που εκλύονται από ένα μολυσμένο ή κατεστραμμένο κύτταρο δημιουργούν στον ιστό μια διαφορά συγκεντρώσεων. Τα χημειοευαίσθητα κύτταρα ωθούνται προς την υψηλότερη συγκέντρωση χημειοκινών. Ο μείζων ρόλος των χημειοκινών είναι να προσελκύσουν κύτταρα στην περιοχή στόχο βάσει των συγκεντρώσεων τους. Οι χημειοκίνες επιτηρούν το ανοσοποιητικό σύστημα μέσω της κατεύθυνσης των λεμφοκυττάρων στους λεμφαδένες για να αλληλεπιδράσουν με αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα της περιοχής στην περίπτωση λοίμωξης. Άλλες χημειοκίνες όπως προαναφέρθηκε έχουν ενεργό ρόλο στην ανάπτυξη. Επάγουν την αγγειογένεση και οδηγούν κύτταρα τα οποία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική ωρίμανση μέσω σημάτων προς τους ιστούς στόχους.

Οι φλεγμονώδεις χημειοκίνες απελευθερώνονται από πλειάδα κυττάρων που αντιδρούν σε βακτήρια, ιούς και άλλους παράγοντες που προκαλούν φλεγμονή όπως οι κρύσταλλοι ουρίας στην ουρική αρθρίτιδα ή το πυρίτιο (Si). Εκτός από την απάντηση σε αντιγόνα προάγουν και την επούλωση των ιστών. Η απελευθέρωση τους επάγεται από προφλεγμονώδεις κυττοκίνες όπως η IL-1. Συνήθως δρουν ως χημειοσυσσωρευτές λευκών

αιμοσφαιρίων όπως μονοκυττάρων και μακροφάγων στην περιοχή φλεγμονής.

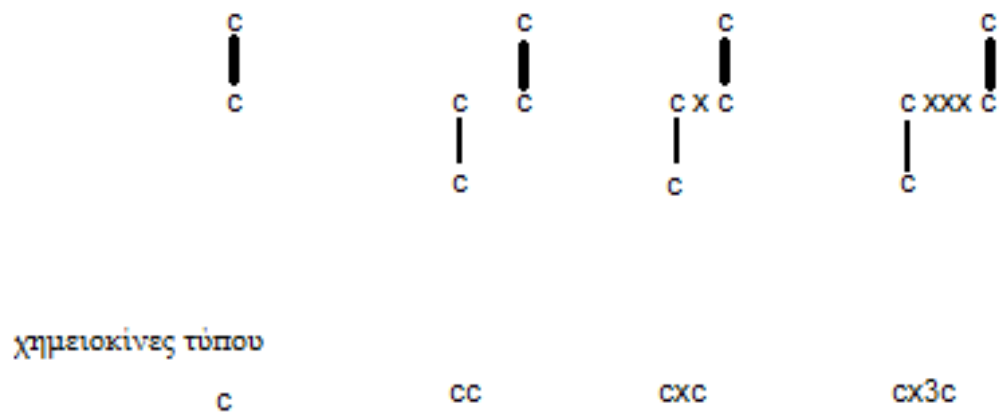


Εικ. 2 Τρισδιάστατη απεικόνιση χημειοκίνης

Όλες οι χημειοκίνες χαρακτηρίζονται από μια τυπική δομή που προσομοιάζει τον αρχαιοελληνικό μαϊάνδρο. Το σχήμα αυτό σταθεροποιείται

μέσω δισουλφιδικών δεσμών μεταξύ των διατηρούμενων ομάδων κυστεΐνης. Οι πρωτεΐνες κατηγοριοποιούνται ως χημειοκίνες βάσει των δομικών τους χαρακτηριστικών και βάσει των χημειοτακτικών τους ιδιοτήτων. Είναι μικρές πρωτεΐνες με μοριακό βάρος 8-10 kDa. Είναι πανομοιότυπες κατά 20-50% καθώς μοιράζονται την ίδια γονιδιακή αλληλουχία και αλληλουχία ομολογίας αμινοξέων. Επίσης διατηρούν αμινοξέα σημαντικά στην δημιουργία της τρισδιάστατης δομής τους, όπως τέσσερις κυστεΐνες που αλληλοσυνδέονται για τη δημιουργία του προαναφερθέντος σχήματος μαιάνδρου χαρακτηριστικού των χημειοκινών. Διαμοριακοί δισουλφιδικοί δεσμοί συνδέουν την πρώτη στην τρίτη ομάδα κυστεΐνης και τη δεύτερη στην τέταρτη κυστεΐνομάδα αριθμούμενες όπως εμφανίζονται στην πρωτεϊνική αλληλουχία των χημειοκινών. Τυπικά οι χημειοκίνες παράγονται ως προπεπτίδια, αρχίζοντας με ένα πεπτίδιο σηματοδότη περίπου είκοσι αμινοξέων το οποίο αποσπάται από το ενεργό-ώριμο μόριο κατά την απέκκρισή του από το κύτταρο. Οι δυο πρώτες κυστεΐνες σε μια χημειοκίνη βρίσκονται κοντά ή μια στην άλλη πλησίον του αμινοτελικού άκρου τους (N-terminal end) της ώριμης πρωτεΐνης, η τρίτη κυστεΐνη βρίσκεται στο κέντρο του μορίου ενώ η τέταρτη είναι πλησίον του καρβοξυτελικού άκρου (C-terminal end). Στη συνέχεια ακολουθεί ένας βρόχος (loop) δέκα αμινοξέων γνωστός ως N-loop, μια έλικα μονής περιστροφής γνωστή ως 3_{10} -helix, τρεις β-αλυσίδες και μια καρβοξυλική α-έλικα. Αυτές οι έλικες και αλυσοί συνδέονται με στροφές (turns) οι οποίες αποκαλούνται 30s, 40s και 50s loops. Η τρίτη και τέταρτη κυστεΐνη βρίσκονται στις στροφές 30s και 50s.[3]

Δομή χημειοκινών



Εικ. 3 Οι χημειοκίνες διαχωρίζονται σε τέσσερις ομάδες ανάλογα με το διάστημα των πρώτων δυο κυστεϊνομάδων τους, π.χ. CCL1 για τον προσδέτη 1 της ομάδος CC, και CCR1 για τον αντίστοιχο υποδοχέα

Είδη Χημειοκινών

CC χημειοκίνες

Οι CC χημειοκίνες (β -chemokine) πρωτεΐνες έχουν δυο παρακαείμενες κυστεΐνες στο αμινοτελικό άκρο τους (amino terminus). Οι χημειοκίνες αυτής της υποομάδας περιέχουν τέσσερις κυστεΐνες (C4-CC), ενώ πολύ λίγες περιέχουν έξι (C6-CC). [4]

Οι χημειοκίνες προάγουν τη μετανάστευση μονοκυττάρων και άλλων κυττάρων όπως των κυττάρων φυσικών φονέων και των δενδριτικών κυττάρων. Παράδειγμα αυτών των χημειοκινών είναι η monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1 or CCL2) η οποία προάγει την μετακίνηση των μονοκυττάρων από το αίμα στους πέριξ ιστούς για να μεταμορφωθούν σε ιστικά μακροφάγα. Η χημειοκίνη CCL5 (RANTES) προσελκύει κύτταρα τα οποία εκφράζουν τον υποδοχέα CCR5, όπως τα λεμφοκύτταρα, τα ηωσινόφιλα και τα βασεόφιλα κύτταρα. Αυξημένα επίπεδα CCL11 στο πλάσμα έχουν σχετιστεί με τη γήρανση σε ζωικά πρότυπα και στους ανθρώπους. [5]

CXC Χημειοκίνες

Οι αμινοτελικές κυστεΐνες των CXC χημειοκινών (α-chemokines) διαχωρίζονται από ένα αμινοξύ (X). Υπάρχουν 17 διαφορετικές χημειοκίνες CXC στα θηλαστικά και υποκατηγοριοποιούνται σε δυο ομάδες: αυτές με συγκεκριμένη αλληλουχία αμινοξέων γλουταμικού οξέος - λευκίνης - αργινίνης (ELR) πριν την πρώτη κυστεΐνη της CXC (ELR-positive), και αυτές χωρίς το μοτίβο αυτό (ELR-negative). Οι ELR-positive CXC χημειοκίνες επάγουν την μετανάστευση των ουδετερόφιλων και αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς CXCR1 and CXCR2. Παράδειγμα ELR-positive CXC χημειοκίνης είναι η IL-8, η οποία οδηγεί τα ουδετερόφιλα από το αίμα στους πέριξ ιστούς. Άλλες χημειοκίνες ELR negative, όπως η CXCL13, είναι χημειο-ελκτική για τα

λεμφοκύτταρα. Οι CXC χημειοκίνες προσδένουν σε CXC υποδοχείς, εκ των οποίων μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί μόνο επτά: CXCR1 έως και 7.

C Χημειοκίνες

Η τρίτη ομάδα χημειοκινών (γ chemokines), αποτελείται από μόνο δυο κυστεΐνες και ως προς αυτό διαφέρει από τις άλλες ομάδες χημειοκινών (XCL lymphotactin-α και XCL2 lymphotactin-β).

CX3C Χημειοκίνες

Μια τέταρτη ομάδα η οποία έχει τρία αμινοξέα μεταξύ των δυο κυστεΐνων ονομάζεται CX3C chemokine (d-chemokines). Μέχρι σήμερα έχει ανακαλυφθεί μια τέτοια χημειοκίνη και ονομάζεται fractalkine (CX3CL1). Εκκρίνεται και προσδένεται στο ίδιο κύτταρο που την εκφράζει οπότε λειτουργεί ως χημειοκίνη και ως μόριο προσκόλλησης.

Υποδοχείς Χημειοκινών

Οι υποδοχείς των χημειοκινών είναι υποδοχείς συνδεδεμένοι με την G πρωτεΐνη, έχουν επτά περιοχές που καταλαμβάνουν όλη την κυτταρική μεμβράνη και βρίσκονται στην επιφάνεια των λευκών αιμοσφαιρίων. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 19 διαφορετικοί υποδοχείς χημειοκινών και έχουν διαχωρισθεί σε τέσσερις υποομάδες ανάλογα με την ομάδα

χημειοκινών που προσδένουν. CXCR για τις CXC χημειοκίνες, CCR για τις CC χημειοκίνες, CX3CR1 για την CX3C χημειοκίνη (CX3CL1), και XCR1 για τις XC χημειοκίνες (XCL1 and XCL2). Οι G πρωτεΐνες προσδένουν στο καρβοξυτελικό άκρο του υποδοχέα επιτρέποντας την ενδοκυττάρια μεταγωγή σήματος μετά την ενεργοποίηση του υποδοχέα, ενώ η αμινοτελική περιοχή του υποδοχέα της χημειοκίνης καθορίζει την ειδικότητα και εκλεκτικότητα του προσδέτη. [6]

Μεταγωγή Σήματος

Οι υποδοχείς των χημειοκινών συνδέονται με τις G πρωτεΐνες για να μεταγάγουν κυτταρικά σήματα μετά την πρόσδεσή τους. Η ενεργοποίηση της πρωτεΐνης G από τους υποδοχείς των χημειοκινών προκαλεί την ενεργοποίηση ενός ενζύμου, της φωσφολιπάσης C (PLC). Η PLC διασπά ένα μόριο την phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate (PIP₂) σε ένα δεύτερο αγγελιοφόρο μόριο την Inositol triphosphate (IP₃) και τη diacylglycerol (DAG) τα οποία προάγουν την μεταγωγή ενδοκυττάρια σιμάτων. Η DAG ενεργοποιεί την protein kinase C (PKC), ενώ IP₃ προκαλεί την έκλυση ενδοκυττάρια ασβεστίου. Τα γεγονότα αυτά προωθούν ένα καταρράκτη σιμάτων όπως την οδό της MAP κινάσης και κατά αυτόν τον τρόπο προάγεται η χημειοταξία, η αποκοκκίωση, η έκλυση ανιόντων υπεροξειδίου και προκαλείται ενδοκυττάρια πλεόνασμα κυτταρικών μορίων προσκόλλησης ονόματι integrins στα κύτταρα που φέρουν τον υποδοχέα της χημειοκίνης.[7]

Έλεγχος Μόλυνσης δια των χημειοκινών

Η ανακάλυψη ότι η β χημειοκίνη RANTES και οι MIP (macrophage inflammatory proteins) 1 α και 1 β (CCL5, CCL3 και CCL4 αντιστοίχως) καταστέλλουν τον HIV -1 έδειξε ότι τα μόρια αυτά μπορεί να έχουν κεντρικό ρόλο στον έλεγχο μιας λοίμωξης σαν ανοσολογική *in vivo* απάντηση. [8]

Η συσχέτιση της παραγωγής χημειοκινών με την παραγωγή κυττάρων από τον μυελό των οστών, η καλύτερη κλινική εικόνα ασθενών με λοίμωξη HIV καθώς και η μη λοίμωξη σε άτομα τα οποία θα έπρεπε τουλάχιστον θεωρητικά να είχαν μολυνθεί από τον HIV ιό, δίνουν σαφή ένδειξη του ρόλου τους στην λοίμωξη από τον HIV και πιθανότατα γενικότερα στις λοιμώξεις.[9]

Σηψαιμία - σηπτική καταπληξία και Περιτονίτιδα

Η σηψαιμία και η σηπτική καταπληξία είναι σύνδρομα τα οποία προκαλούνται από την παρουσία μικροοργανισμών ή των τοξικών παραγώγων τους στο αίμα. Η αντίδραση του ανθρώπινου οργανισμού στα αντιγόνα περιλαμβάνει μια σωρεία αντιδράσεων με αρχόμενη τη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση [systemic inflammatory response syndrome (SIRS)]. Επακόλουθο αυτής μπορεί να είναι η πολυοργανική ανεπάρκεια [multiple organ failure syndrome (MOFS)]. Χαρακτηριστικά της σηψαιμίας είναι ο πυρετός, το ρίγος, η ταχυκαρδία, η ταχύπνοια και το επηρεασμένο επίπεδο συνείδησης. Στην περίπτωση που καθίσταται υποάρδευση και υποξία των ιστών και του οργανισμού, ο όρος σηπτικό σοκ ή σηπτικό σύνδρομο είναι δόκιμος [10-11]. Η υπεραντίδραση του οργανισμού στην λοίμωξη ορίζεται ως βαρεία σήψη “severe sepsis.” Αυτή η υπεραντίδραση διαταράσσει την ομοιόσταση μέσω ανεξέλεγκτης φλεγμονής, διαταραχών πήξης και ανεπαρκούς ινωδόλυσης [12-16]. Η διαταραχή της μικροκυκλοφορίας οδηγεί στην καθολική ιστική υποξία και στην βλάβη των ιστών. Κατά τον τρόπο αυτό ο ασθενής δύναται να αναπτύξει πολυοργανική ανεπάρκεια, η οποία μπορεί να οδηγήσει στον θάνατο [17-20].

Η σήψη που έχει πρωταρχική εστία την κοιλιακή χώρα ονομάζεται σήψη ενδοκοιλιακής αιτιολογίας. Η ενδοκοιλιακή σήψη συνήθως οδηγεί σε περιτονίτιδα. Η περιτονίτιδα ορίζεται ως η φλεγμονή του περιτοναίου με συνοδό αύξηση του περιτοναϊκού υγρού καθώς παρουσιάζεται διίδρωση

υγρού πλούσιου σε πολυμορφοπύρρηνα λευκά αιμοσφαίρια και ινικής. Η οξεία περιτονίτιδα μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε α) πρωτοπαθή, όπου εγκαθίσταται *de novo* μια λοίμωξη του περιτοναίου ή δευτεροπαθής οπότε υπάρχει αναγνωρίσιμη εστία και αιτία. Η δευτεροπαθής περιτονίτις μπορεί να υποκατηγοριοποιηθεί σε (i) οξεία πυώδη περιτονίτιδα, (ii) κοκκιωματώδη περιτονίτιδα, (iii) άσηπτη περιτονίτιδα (χυμική), (iv) επεμβατική περιτονίτιδα, (v) τραυματική περιτονίτιδα, (vi) φαρμακευτική περιτονίτιδα, και (vii) χρόνια (σκληρωτική) περιτονίτιδα [21].

Η εντόπιση της εστίας λοίμωξης είναι κεφαλαιώδους σημασίας στην περίπτωση της ενδοκοιλιακής σήψης. Κατά την τελευταία δεκαετία οι τεχνολογικές εξελίξεις έδωσαν στον κλινικό ιατρό χρήσιμα όπλα για την εντόπιση και αντιμετώπιση τέτοιων λοιμώξεων. Οι κλασσικές αιματολογικές παράμετροι, τα ζωτικά σημεία και η κλινική εξέταση του ασθενούς είναι ο βασικός τρόπος αξιολόγησης μιας ενδοκοιλιακής λοίμωξης. Πολλές φορές όμως ηλικιωμένοι ή ανοσοκατεσταλμένοι δεν εμφανίζουν την κλασσική συμπτωματολογία αλλά και δεν ανοσοδιεγείρονται ώστε να εμφανίσουν πυρετό και αυξημένα λευκά αιμοσφαίρια στο αίμα.

Επίμονη πολυμικροβιακή βακτηριαιμία είναι δείκτης ενδοκοιλιακής λοίμωξης. Ακόμη πρέπει να αναφερθεί ότι το βακτήριο *B. fragilis* το οποίο αποτελεί μόνο το 0,5% της εντερικής χλωρίδας είναι το κοινότερα καλλιεργούμενο αναερόβιο παθογόνο πιθανότατα λόγω της αυξημένης του νοσογονικότητας (potent virulence factors) [22] οπότε και συμπεραίνεται ότι

η παρουσία του σε καλλιέργεια συνηγορεί υπέρ μικροβιαμίας ενδοκοιλιακής προέλευσης.

Άλλες μέθοδοι που συνεπικουρούν στη διάγνωση μιας ενδοκοιλιακής λοίμωξης είναι ο απεικονιστικός έλεγχος. Η απλή ακτινογραφία κοιλίας παρότι συχνά δεν είναι διαγνωστική δίνει πληροφορίες που βοηθούν στην περαιτέρω διερεύνηση του ασθενούς. Ο υπερηχογραφικός έλεγχος έχει σχεδόν 90% πιθανότητα να δείξει ένα ενδοκοιλιακό απόστημα αλλά είναι εξέταση που εξαρτάται από τον χειριστή και την εμπειρία του. Η αξονική τομογραφία έχει άνω του 95% ακρίβεια και θεωρείται ο καλύτερος απεικονιστικός έλεγχος. Ραδιοσημασμένα λευκοκύτταρα με γάλλιο-67 ή ινδίο-111 μπορούν να βοηθήσουν στον εντοπισμό μιας φλεγμονής [23]. Όταν υπάρχει ένδειξη, ενδοκοιλιακά αποστήματα δύνανται να παρακεντηθούν υπό υπερηχογραφική ή CT ακτινοσκοπική καθοδήγηση [24, 25].

Μολονότι υπάρχουν όλοι αυτοί οι μη επεμβατικοί τρόποι να αντιμετωπίσει ο κλινικός ιατρός μια ενδοκοιλιακή λοίμωξη πρέπει να αναφερθεί ότι ή ερευνητική λαπαροτομία είναι ο ύστατος τρόπος διάγνωσης αλλά πολλές φορές και θεραπείας μιας ενδοκοιλιακής λοίμωξης. Σχετικώς



Εικ. 4 Απόστημα ήπατος

πρόσφατα, όλο και περισσότεροι χειρουργοί δείχνουν μια προτίμηση σε όλο και λιγότερο επεμβατικές μεθόδους αντιμετώπισης των ενδοκοιλιακών λοιμώξεων. Η λαπαροσκοπική μέθοδος φαίνεται ότι κερδίζει όλο και περισσότερο έδαφος σε χειρουργεία εκλογής καθώς φαίνεται ότι επιβαρύνει

λιγότερο τον ασθενή [26-30]. Η εποχή της χρήσης της λαπαροσκοπικής μεθόδου στην αντιμετώπιση πασχόντων από ενδοκοιλιακή λοίμωξη μοιάζει να είναι όλο και πιο κοντά.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΠΕΡΙΤΟΝΙΤΙΔΑΣ

Η παθοφυσιολογία της ενδοκοιλιακής σήψης έχει μελετηθεί με ποικίλους τρόπους και πειραματικά μοντέλα. Μύες, επίμυες, κόνικλοι και χοίροι είναι τα συνήθη ζωικά πρότυπα. Τα κοινότερα πειραματικά μοντέλα είναι η περιτονίτιδα προκληθείσα με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση λιποπολυσακχαριτών (LPS), η έγχυση διαλύματος σφαιριδίων κοπράνων, το μοντέλο προκαθορισμένα ποσοτικά και ποιοτικά βακτηριακού φορτίου και η ενδογενής μόλυνση της περιτοναϊκής κοιλότητας. Το τελευταίο αποτελείται από δυο διακριτά μοντέλα στα οποία στο πρώτο προκαλείται περιτονίτιδα με την τοποθέτηση καθετήρα στο ανιόν κόλο (CASP) ενώ στο δεύτερο διάτρηση και απολίνωση του τυφλού εντέρου (CLP). Με αυτά τα πειραματικά μοντέλα, οι ερευνητές έχουν μελετήσει την ανταπόκριση των σηπτικών ζωικών προτύπων σε χειρισμούς λαπαροτομίας και λαπαροσκόπησης [31].



Εικ. 5 Η περιτοναϊκή κοιλότητα και το τυφλό κόλον επίμυος Wistar

Περιτονίτιδα με έγχυση λιποπολυσακχαριτών (LPS)

Το μοντέλο αυτό στηρίζεται στη θεωρία ότι η σήψη και η ανεπάρκεια οργάνων προκαλείται από την αντίδραση του ξενιστή στα βακτήρια και τα παράγωγά τους. Η σηπτική καταπληξία και η πολυοργανική ανεπάρκεια θεωρείται ότι απορρέουν από τη χυμική και κυτταρική απάντηση του ξενιστή. Η αντίδραση αυτή προκαλείται από τα βακτήρια και τα παράγωγά τους, όπως είναι οι ενδοτοξίνες τους. Βασιζόμενοι στα προαναφερθέντα, πολλοί ερευνητές θεωρούν ότι το μοντέλο έγχυσης λιποπολυσακχαρίδης είναι ένα υποκατάστατο των μοντέλων που χρησιμοποιούν ζωντανά βακτήρια καθώς είναι ευκολότερο στη χρήση και μπορεί να έχει ποιοτική και ποσοτική ακρίβεια. Καθώς το μοντέλο αυτό παρουσιάζει επαναληψιμότητα έγινε σταδιακά ευρέως αποδεκτό. Πάραυτα, μετά από την ανάπτυξη ποικίλων θεραπειών χρησιμοποιώντας το μοντέλο της ενδοπεριτοναϊκής έγχυσης ενδοτοξίνης, φάνηκε ότι υπάρχουν σφάλματα στη μεθοδολογία των πειραμάτων καθώς οι θεραπείες κρίθηκαν αναποτελεσματικές και επικίνδυνες στην κλινική πράξη [32]. Στην πραγματικότητα μεγάλος αριθμός προκλινικών μελετών έδειξαν ότι η βακτηριακή περιτονίτιδα διαφέρει από την περιτονίτιδα εξ έγχυσης λιποπολυσακχαρίδης σε σημεία κλειδιά της παθοφυσιολογίας της φλεγμονής και σήψης. Για παράδειγμα τα μετρούμενα επίπεδα κυτταροκινών παρουσιάζουν διαφορετικές καμπύλες τιμών προς το χρόνο σε πειράματα όπου η περιτονίτιδα προεκλήθη με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση λιποπολυσακχαρίδης (LPS) και σε μοντέλα απολίνωσης του τυφλού

[33]. Ομοίως, άλλη μελέτη έχει δείξει ότι τα μετρούμενα επίπεδα κυτταροκινών στον ορό ή και στο περιτοναϊκό υγρό δεν συμβαδίζουν μεταξύ μοντέλου LPS και CLP. Περαιτέρω η ίδια μελέτη ανέδειξε ότι παρότι η επιβίωση των σηπτικών ζωικών προτύπων που είχαν λάβει LPS βελτιώθηκε μετά την χρήση αναστολέων κυτταροκινών δεν έγινε το ίδιο στο σκέλος των ζωικών προτύπων που έλαβαν ζώντα βακτήρια με έγχυση στο περιτόναιο. Συμπερασματικά, παρόλη τη χρησιμότητα των μοντέλων LPS, δεν φαίνεται να είναι χρήσιμα για την προκλινική αξιολόγηση θεραπειών ώστε να εφαρμοστούν σε άνθρωπο [34].

Έγχυση διαλύματος κοπράνων

Το μοντέλο αυτό ανεπτύχθη κατά την δεκαετία του 1960 από ερευνητές οι οποίοι ήθελαν να διευκρινίσουν τα αίτια που κάποιες λοιμώξεις εξελίσσονται σε περιτονίτιδες ενώ άλλες οδηγούν στο σχηματισμό αποστημάτων. Στο μοντέλο αυτό τοποθετούνται ενδοπεριτοναϊκά κόπρανα και βάριο σε μορφή σφαιριδίου, σε κάψουλα ζελατίνης ή σε θρόμβο ινικής. Η βιοδιαλυτές κάψουλες ή οι θρόμβοι ινικής χρησιμοποιήθηκαν ώστε να μην υπάρχει ταχεία απομάκρυνση του βακτηριακού φορτίου από την άμυνα του ξενιστή. Με τον τρόπο αυτό επιμηκύνεται η διάρκεια νόσου και μπορεί να τροποποιηθεί το ποσοστό θνητότητας. Στην περίπτωση που δεν χρησιμοποιηθούν επιπρόσθετα υλικά όπως τα προαναφερθέντα, τα ζωικά πρότυπα είτε κατέληγαν ταχέως είτε ανάρρωναν πλήρως.

Η προκληθείσα θνητότητα του μοντέλου εξαρτάται από τα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά του βακτηριακού φορτίου των κοπράνων και οι περισσότεροι θάνατοι επέρχονται μεταξύ των 24 με 48 ωρών. Πρέπει να αναφερθεί ότι το μοντέλο αυτό δεν προτιμάται από την πλειοψηφία των ερευνητών. Πρωτίστως προτιμούνται μοντέλα των οποίων τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά είναι ελεγχόμενα, καθώς έτσι τα πειράματα χαρακτηρίζονται από την επιθυμητή επαναληψιμότητα [35-37].

Μοντέλο προκαθορισμένου ποσοτικά και ποιοτικά βακτηριακού φορτίου

Το μοντέλο αυτό έχει κοινά χαρακτηριστικά με αυτό της έγχυσης διαλύματος κοπράνων με την ειδοποιό διαφορά ότι το βακτηριακό φορτίο μπορεί να είναι προκαθορισμένο ως προς τα ποιοτικά και ποσοτικά του χαρακτηριστικά [38-40]. Συνήθως, κάποιο στέλεχος *E. coli* αναμιγνύεται με στείρο διάλυμα κοπράνων. Επιλέγεται στελέχος *E. coli* καθώς έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί περιτονίτιδα. Κατά κανόνα ο θάνατος επέρχεται στις πρώτες 48 ώρες και η θνητότητα ελέγχεται τροποποιώντας τη δόση του βακτηριακού φορτίου (πχ ανάπτυξη φορτίου 10⁸ CFU προκαλεί τον θάνατο σε ποσοστά 70%-80% των ζωικών προτύπων, ενώ φορτίο 10⁷ CFU προκαλεί ελάχιστη ή και καθόλου θνητότητα). Παρόμοια θνητότητα παρατηρείται όταν προστίθεται στην *E. coli* *Bacteroides sp.* Τα δυο προαναφερθέντα μοντέλα

σχετίζονται με μια πρόωρη υπερδυναμική καρδιαγγειακή απάντηση όμοια με αυτή που απαντάται σε ασθενείς.

Επιπροσθέτως, μελέτες έχουν δείξει ότι τα ζωικά πρότυπα των μοντέλων αυτών υφίστανται μεταβολικές και ανοσολογικές μεταβολές για πέντε ή και περισσότερες ημέρες, ειδικά όταν γίνονται θεραπευτικοί χειρισμοί όπως η χορήγηση υγρών και αντιβιοτικών [41]. Κάποιοι ερευνητές έχουν χορηγήσει φορτίο *E. coli* χωρίς επιπρόσθετα όπως βάριο ή διάλυμα στείων κοπράνων. Στην περίπτωση αυτή φάνηκε ότι χρειάζονται μεγαλύτερες δόσεις της τάξης των 10¹⁰ CFU για να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα της περιτονίτιδας. Ακόμη στην περίπτωση που γίνονται θεραπευτικοί χειρισμοί το ποσοστό θνητότητας φθάνει από σχεδόν 100% στο 20% [42]. Στα μοντέλα αυτά έχει προστεθεί η χρήση του *B. fragilis* για να επιτευχθεί η εγκατάσταση αποστήματος στην περιτοναϊκή κοιλότητα [43]. Πάραυτα πρέπει να αναφερθεί ότι η προσθήκη του *B. fragilis* δεν προκαλούσε θνητότητα και το μοντέλο αυτό δεν μπορεί να θεωρηθεί ότι μιμείται την ενδοκοιλιακή σήψη ανθρώπου, καθώς τα αποστήματα στα ζωικά πρότυπα αυτοπεριορίζονται σε διάστημα μερικών εβδομάδων χωρίς θεραπευτικούς χειρισμούς.

Μοντέλα ενδογενούς περιτονίτιδας

Το αρχέτυπο πειραματικό μοντέλο, “cecal ligation and puncture” (CLP) >> ενδογενούς περιτονίτιδας είναι η απολίνωση του τυφλού και η διάτρησή του με βελόνη. Όπως είχε αρχικά περιγραφεί [44], το μοντέλο αυτό οδηγεί τα ζωικά πρότυπα σε σηπτική καταπληξία και θάνατο σε 24-48 ώρες. Το μοντέλο αυτό, σχετίζεται με πολυμικροβιακή σήψη, βακτηριαιμία, πρώιμη υπερδυναμική κυκλοφορία του αίματος και απώτερη υποδυναμική καταπληξία. Πλεονέκτημα της τεχνικής αυτής αποτελεί το γεγονός ότι τα ποσοστά θνησιμότητας και ο χρόνος στον οποίο επέρχεται ο θάνατος είναι ανάλογα του μεγέθους της διάτρησης και του αριθμού των τρώσεων του εντέρου. Αδυναμία του αρχικώς περιγεγραμμένου μοντέλου είναι ότι δεν περιελάμβανε τη χορήγηση υγρών και αντιβιοτικών. Οι δυο προαναφερθέντες χειρισμοί είναι απαραίτητοι σε ασθενείς πάσχοντες από περιτονίτιδα και θεωρείται ότι το μοντέλο αυτό δεν ανταποκρίνεται σαν ερευνητικό προκλινικό πρότυπο για θεραπευτικούς χειρισμούς. Έκτοτε βέβαια έχει προκύψει στην βιβλιογραφία ένας ικανός αριθμός μελετών που συμπεριέλαβαν την χορήγηση υγρών και αντιβιώσεων [45]. Επί του συνόλου φάνηκε ότι η χρήση ιμιπενέμης και η χορήγηση υγρών μείωσε τα ποσοστά θνησιμότητας στο 50-75% σε σύγκριση με ζωικά πρότυπα που δεν έλαβαν αγωγή.

Επιπλέον, η σχέση μεταξύ της διαμέτρου της βελόνης που χρησιμοποιήθηκε για την τρώση του τυφλού εντέρου και των ποσοστών

θνησιμότητας διατηρείται ακόμη και στην ομάδα επίμυων που έλαβαν αγωγή [46]. Το μοντέλο CLP αποτελεί τη ναυαρχίδα των μελετών που αφιερώνονται στην μελέτη της παθοφυσιολογίας της ενδοκοιλιακής σήψης, των εξερευνούμενων θεραπειών της περιτονίτιδας και των συστημικών επιπτώσεων της περιτονίτιδας.

Ένα δεύτερο μοντέλο πειραματικής ενδογενούς περιτονίτιδας σε ζωικά πρότυπα είναι η περιτονίτιδα προκληθείσα δια της τοποθέτησης καθετήρα στο ανιόν κόλο, “colon ascendens stent peritonitis” (CASP). Το μοντέλο αυτό περιγράφηκε το 1998, και όπως υποδηλώνει το όνομά του προάγεται περιτονίτιδα δια του μόνιμου καθετηριασμού του ανιόντος κόλου. Όπως είναι ευνόητο, το περιεχόμενο του εντέρου χύνεται στην περιτοναϊκή κοιλότητα και έτσι προκαλείτε περιτονίτιδα. Η μόνιμη τοποθέτηση του καθετήρα στο κόλο εξασφαλίζει την διατήρηση της οπής και της συνεχούς μόλυνσης του περιτοναίου. Όπως και στο μοντέλο απολίνωσης και διάτρησης του τυφλού, όσο μεγαλύτερη η διάμετρος του καθετήρα τόσο υψηλότερα τα ποσοστά θνησιμότητας. Ένας καθετήρας 14 gauge προκαλεί 100% θνητότητα, ενώ ο καθετήρας των 18 και 22 gauge επιφέρουν το θάνατο κατά 68% και 25% αντιστοίχως. Παρομοίως, ο χρόνος στον οποίο επέρχεται ο θάνατος είναι ανάλογος του διαμετρήματος του καθετήρα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η αφαίρεση του καθετήρα εντός τριών ωρών από την τοποθέτησή του σχετίζεται με 100% επιβίωση των ζωικών προτύπων ενώ η αφαίρεση του καθετήρα μετά την ένατη ώρα δεν είχε αντίκτυπο στην επιβίωση των ζωικών προτύπων [47]. Η δυνατότητα αυτή καθιστά αυτό το

μοντέλο ιδιαίτερο χρήσιμο σε προκλινικές μελέτες διότι προσεγγίζει στο μέγιστο δυνατό βαθμό την ανθρώπινη σήψη

Μοντέλο	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση λιποπολυσακχαρίδης (LPS)	Εύκολο στη χρήση, επαναλήψιμο	Η ενδοτοξίνη δεν είναι ο μόνος βακτηριακός παράγοντας που επηρεάζει τον οργανισμό
Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση διαλύματος σφαιριδίων κοπράνων	Εύκολο στη χρήση, επαναλήψιμο	Ποσοτικά και ποιοτικά ανόμοια δείγματα
Ενδοπεριτοναϊκή έγχυσης προκαθορισμένου βακτηριακού φορτίου	Εύκολο στη χρήση, επαναλήψιμο	Ποσοτικά και ποιοτικά προκαθορισμένα δείγματα
Ενδογενής χειρουργική μόλυνση της περιτοναϊκής κοιλότητας	Εύκολο στη χρήση, επαναλήψιμο, μιμείται την περιτονίτιδα σε άνθρωπο	Χρειάζεται χειρουργική παρέμβαση ώστε να προκληθεί περιτονίτιδα

Πιν. 1 Συνήθη μοντέλα για την εγκατάσταση μικροβιακής περιτονίτιδας

Οι διαγνωστικοί και θεραπευτικοί χειρισμοί στη σήψη ενδοκοιλιακής αιτίας αποτελούν ένα σημαντικό πεδίο έρευνας. Παρόλη την τεχνολογική εξέλιξη που υποβοηθά τον κλινικό ιατρό, η διάγνωση της υποκείμενης αιτίας στην ενδοκοιλιακή σήψη είναι ιδιαίτερα δύσκολη οπότε και πολλοί χειρουργοί προτιμούν την χειρουργική διερεύνηση από την αναμονή. Στην εποχή μας είναι όλο και πιο προσιτή η λαπαροσκοπική διερεύνηση καθώς ο αριθμός των χειρουργών που εξειδικεύονται στην λαπαροσκοπική χειρουργική είναι σημαντικός. Το ζητούμενο είναι εάν η λαπαροσκοπική διερεύνηση υπερτερεί της διερευνητικής λαπαροτομίας όσον αφορά τη καλύτερη διατήρηση της ανοσοϊκανότητας του ασθενούς, την ελαχιστοποίηση του στρες διεγχειρητικά και μετεγχειρητικά αλλά και την δυνατότητα του χειρουργού να εκτελέσει τις απαραίτητες θεραπευτικές ενέργειες μέσω της λαπαροσκοπικής μεθόδου.

Η επίδραση του πνευμοπεριτοναίου στην σήψη ενδοκοιλιακής προέλευσης

Χαρακτηριστικό της λαπαροσκοπικής χειρουργικής είναι η εμφύσηση αερίου και η εγκατάσταση πνευμοπεριτοναίου στην περιτοναϊκή κοιλότητα ώστε να δημιουργηθεί κατάλληλο χειρουργικό πεδίο. Για την δημιουργία πνευμοπεριτοναίου έχουν χρησιμοποιηθεί διοξείδιο του άνθρακα (CO₂), ήλιο, ατμοσφαιρικός αέρας και άλλα αέρια. Στην εποχή μας χρησιμοποιούμε

το CO₂, καθώς σε αντίθεση με άλλα αέρια δεν προάγει την ανάφλεξη, απορροφάται εύκολα και απεκκρίνεται από τον ανθρώπινο οργανισμό.

Επιπροσθέτως, φαίνεται να έχει ευεργετική επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα εν σχέση με άλλα αέρια. Συγκεκριμένα, σε μοντέλο LPS το CO₂ και όχι το ήλιο ή ο αέρας μείωσε τα ποσοστά θνητότητας των ζωικών προτύπων. Αυτή η μελέτη προάγει την ιδέα ότι υπάρχει παθοφυσιολογικός μηχανισμός μέσω του οποίου δρα το CO₂ καθώς το πνευμοπεριτόναιο μείωσε τη θνητότητα δια της μειορρύθμισης του TNF-α από την IL-10 [48]. Σε αντιστοιχία άλλη μελέτη έδειξε ότι το καρβοπεριτόναιο ανέστειλε την οξεία φλεγμονώδη απάντηση σε περιεγχειρητική σήψη [49] εκλύοντας διαφορετικές αντιδράσεις μεταξύ των συστηματικών και περιτοναϊκών κυτοκινών [50]. Οι συγκεντρώσεις των περιτοναϊκών κυτοκινών (TNF-α, IL-1β, και IL-6), ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων και λεμφοκυττάρων ήταν χαμηλότερα σε ομάδα υγείων και σηπτικών ζωικών προτύπων που υποβλήθηκαν σε πνευμοπεριτόναιο από ότι σε ομάδα υγείων και σηπτικών ζώων τα οποία υπέστησαν λαπαροτομία [51].

Πνευμοπεριτόναιο-Καρβοπεριτόναιο και βακτηριακή αλλόθεση

Βακτηριακή αλλόθεση ορίζεται ως η μετακίνηση βακτηρίων ή παραγώγων τους δια του εντέρου και η εμφάνισή τους στη λεμφαγγεία ή στο κυκλοφορικό σύστημα των σπλάγχχνων. Η βακτηριακή αλλόθεση εξαρτάται

από τρεις κύριους παράγοντες: αύξηση του βακτηριακού φορτίου, καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος και παθολογική διαπερατότητα του εντερικού βλεννογόνου [52]. Σε υγιή χοιρίδια τα οποία υπέστησαν πνευμοπεριτόναιο με τη χρήση CO₂, πνευμοπεριτόναιο με ατμοσφαιρικό αέρα, λαπαροτομή και εμφύσηση CO₂, καθώς και λαπαροτομή και έκθεση της περιτοναϊκής κοιλότητας σε αέρα δεν καλλιεργήθηκαν βακτήρια στο περιτοναϊκό υγρό, στους λεμφαδένες ή στο αίμα [53]. Παρόμοια αποτελέσματα ελήφθησαν σε μελέτη σύγκρισης της λαπαροτομίας και της λαπαροσκόπησης σε ζωικά πρότυπα που είχαν λάβει εξωγενή χορήγηση βακτηριακού φορτίου στο περιτόναιο [54]. Επιπροσθέτως σε μοντέλο νεκρωτικής παγκρεατίτιδας το πνευμοπεριτόναιο δεν αύξησε την συγκέντρωση των κυττοκινών αλλά και δεν προκάλεσε βακτηριακή αλλόθεση. Πάραυτα η υποτιθέμενη μικρότερη έκθεση σε τραύμα ομάδα των λαπαροσκοπηθέντων ζωικών προτύπων δεν παρουσίασε άλλη πορεία νεκρωτικής παγκρεατίτιδας από την ομάδα των λαπαροτομηθέντων ζωικών προτύπων [55]. Σε αντίθεση με τις προηγούμενες μελέτες υπάρχουν άλλες οι οποίες εκθέτουν την αύξηση της βακτηριαιμίας σε σπηπικά ζωικά πρότυπα τα οποία υπεβλήθησαν σε λαπαροσκόπηση εν σχέση με την ομάδα ζωικών προτύπων η οποία υποβλήθηκε σε λαπαροτομία [56-58].

Λαπαροτομία, λαπαροσκόπηση και το ανοσοποιητικό σύστημα

Η επίδραση της λαπαροτομίας και της λαπαροσκόπησης στο ανοσοποιητικό σύστημα μη σηπτικών ζωικών προτύπων

Το μείζον διαφαινόμενο πλεονέκτημα της λαπαροσκόπησης έναντι της λαπαροτομίας είναι ότι προκαλεί λιγότερο τραύμα και εκλύει ηπιότερη φλεγμονώδη και νευροενδοκρινική αντίδραση [59]. Τα πλεονεκτήματα της λαπαροσκοπικής χειρουργικής δεν είναι τόσο εμφανή όταν οι κλασσικές λαπαροτομίες μεταβάλλονται από το χειρουργό σε μικρολαπαροτομές. Αυτό δεν σημαίνει βέβαια ότι τα προτερήματα της λαπαροσκοπικής χειρουργικής δεν μπορούν να αναδειχθούν σε μελέτες που συγκρίνουν την λαπαροσκόπηση με τις μικρολαπαροτομίες. Πληθώρα διαμεσολαβητών της συστημικής απάντησης στο τραύμα συντίθενται στο ήπαρ. Έτσι, η παρακάτω μελέτη εκμεταλλευόμενη αυτό το γεγονός συνέκρινε την επίρεια των δυο τεχνικών στα ηπατικά μακροφάγα επίμυων Lewis. Η λαπαροτομία συνοδεύτηκε από μια αύξηση των ED-1 θετικών μονοκυττάρων (ενεργοποιημένα μονοκύτταρα) στο παρέγχυμα του ήπατος, καθώς και μιας γενικευμένης αύξησης των ενεργοποιημένων ηπατικών μονοκυττάρων σε αντίθεση με κάθε άλλη ομάδα. Η μικρολαπαροτομία και η κλασσική λαπαροτομία οδήγησαν σε μια αύξηση των ED-2 θετικών κυττάρων (κύτταρα Kupffer). Αντίθετα η λαπαροσκόπηση δεν αύξησε την κατανομή ή τον αριθμό των ηπατικών μακροφάγων. Η ρυθμιστική ανοσολογική οδός μετά από χειρουργική επέμβαση διαφέρει από αυτήν που επισυμβαίνει στην σήψη στην

οποία τα ανοσοϊκανά κύτταρα ενεργοποιούνται και συσσωρεύονται πέριξ της πυλαίας φλέβας [60]. Το 1995 οι Griffith JP et al μελέτησαν την επίδραση της λαπαροσκοπικής χολοκυστεκτομής και της ανοικτής χολοκυστεκτομής στην κυτταρική ανοσία του ανθρώπινου οργανισμού. Συμπέραναν ότι η λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή κατέστειλε σε πολύ μικρότερο βαθμό την κυτταρική ανοσοϊκανότητα, καθώς σε *in vitro* καλλιέργειες T λεμφοκυττάρων έδειξαν ότι μεταξύ των δυο ομάδων ασθενών υπήρξαν διαφορετικές απαντήσεις των T λεμφοκυττάρων σε διάφορα μιτογόνα στα οποία εκτέθηκαν [61].

Σε αντίθεση με τα προαναφερθέντα, συγκριτική μελέτη λαπαροτομίας και λαπαροσκόπησης σε χοιρίδια έδειξε ότι η κυτταρική ανοσοϊκανότητα κατεστάλη και στις δυο ομάδες. Το μέγεθος και ο χρόνος της προσκληθείσας ανοσοκαταστολής μετά την λαπαροσκοπική χειρουργική φάνηκε να είναι μικρότερος, καθώς μετρήθηκε ο πολλαπλασιασμός των T κυττάρων και η αντίδραση σε εξέταση υπερευαισθησίας του δέρματος [62].

Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα σε κλινική μελέτη του 2003 που συνέκρινε 20 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκόπηση με 20 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροτομία. Όλοι οι ασθενείς έπασχαν από καλοήθεις παθήσεις. Στην ομάδα λαπαροτομίας τα Β λεμφοκύτταρα και η ομάδα κυττάρων Φυσικών Φονέων δεν επηρεάστηκαν ενώ τα μονοκύτταρα που εκφράζουν HLA-DR έδειξαν μακροχρόνια μείωση ($p < 0.011$ 2 ημέρες μετεγχειρητικά και $p < 0.02$ 8 ημέρες μετεγχειρητικά). Διαταραχές στο

ανοσοποιητικό σύστημα ήταν εμφανείς σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροτομία, ενώ δεν παρουσιάστηκαν ανοσολογικές διαταραχές στην ομάδα της λαπαροσκόπησης [63].

Σε προοπτική μελέτη ασθενών οι οποίοι τυχαιοποιημένα υπεβλήθησαν σε λαπαροσκοπική ή ανοικτή χολοκυστεκτομή αξιολογήθηκαν κυτταροκίνες ορού. Τα επίπεδα IL-6 ορού παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) μεταξύ των δυο ομάδων. Οι IL-1 β , IL-10, TNF- α και κορτιζόλη ορού δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές. Οι συγκεντρώσεις των κυττοκινών ήταν υψηλότερες στην ομάδα των ανοικτών χολοκυστεκτομών [64]. Τα προαναφερθέντα υποδεικνύουν ότι η λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή διατηρεί την ανοσοϊκανότητα του οργανισμού ακέραια σε αντίθεση με την ανοικτή χολοκυστεκτομή. Το μέγεθος του τραύματος και ο χρόνος χειρουργείου είναι αντιστρόφως ανάλογος με την ανοσοϊκανότητα του οργανισμού.

Η επίδραση της λαπαροτομίας και της λαπαροσκόπησης στο ανοσοποιητικό σύστημα σήψης ενδοκοιλιακής αιτιολογίας σε ζωικά πρότυπα

Η λαπαροσκοπική χειρουργική ή η λαπαροτομία διατηρεί την ανοσοϊκανότητα του οργανισμού στη σήψη; *In vitro* μελέτες έχουν δείξει ότι το πνευμοπεριτόναιο διαταράσσει την φυσιολογία των μακροφάγων κυττάρων [65]. Θεωρητικά, αυτή η διαταραχή ελαττώνει την ικανότητα του οργανισμού να ανταπεξέλθει σε μια επιμόλυνση του περιτοναίου. Σε μοντέλο περιτονίτιδας με προκαθορισμένο ποσοτικά και ποιοτικά βακτηριακό φορτίο σε μύες οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν σε ομάδες λαπαροσκόπησης με CO₂ πνευμοπεριτόναιο, σε ομάδα λαπαροσκόπησης με ανύψωση του κοιλιακού τοιχώματος και σε μια ομάδα λαπαροτομίας φάνηκε ότι το προκληθέν τραύμα ήταν σαφώς μικρότερο στις ομάδες της λαπαροσκόπησης και ελέγχθηκε η περιτονίτιδα ευκολότερα σε αυτές τις ομάδες [66]. Παρόμοια μελέτη έδειξε ότι η ανάπτυξη βακτηρίων σε περιτοναϊκό υγρό ήταν σαφώς μικρότερη στην ομάδα της λαπαροσκόπησης. Επιπροσθέτως οι θετικές αιμοκαλλιέργειες ήσαν σαφώς λιγότερες στην ομάδα αυτή. Τα επίπεδα IL-1 και IL-6 στο περιτοναϊκό υγρό ήταν επίσης χαμηλότερα στην ομάδα της λαπαροσκόπησης. Το CO₂ δεν έδειξε να επηρεάζει την ανάπτυξη των βακτηρίων [67].

Οι Linhares et al. σε μοντέλο δευτεροπαθούς περιτονίτιδας έδειξαν ότι η βακτηριαιμία από *E. coli* παρουσιάστηκε στην ομάδα της λαπαροτομίας όπως και στην ομάδα της λαπαροσκόπησης χωρίς σημαντικές διαφορές. Το

εύρημα αυτό ήταν ανεξάρτητο από την διάρκεια της περιτονίτιδας. Οι θετικές αιμοκαλλιέργειες σε *B. fragilis* και *E. faecalis* ήταν λιγότερες στην ομάδα της λαπαροσκόπησης ακόμη και στην περίπτωση που η περιτονίτιδα ήταν διάρκειας μεγαλύτερης των 3 ωρών μέχρι και την επέμβαση. Στο μοντέλο, αυτό η ομάδα της λαπαροσκοπικής έκπλυσης της περιτοναϊκής κοιλότητας σχετίστηκε με χαμηλότερα ποσοστά βακτηριαιμίας *B. fragilis* και *E. faecalis* εν σχέση με την ομάδα της λαπαροτομίας και έκπλυσης της περιτοναϊκής κοιλότητας [68]. Σύμφωνα με τα παραπάνω ευρήματα η λαπαροσκοπική τεχνική δημιουργεί ελαφρύτερο τραύμα, δεν επηρεάζει την ανοσοϊκανότητα του οργανισμού και διατηρεί το ενδοκοιλιακό περιβάλλον πιο πρόσφορο για την καταπολέμηση της μόλυνσης. Επιπλέον, τα μακροφάγα του οργανισμού διατηρούν υψηλότερα επίπεδα βασικής ανοσοεπάρκειας. Μετά από δεύτερη προσβολή με LPS, παρουσιάζουν μια κατάσταση ανοχής ή και απευαισθητοποίησης η οποία εκτιμάται λόγω της ελαττωμένης παραγωγής NO και της μειωμένης έκφρασης mRNA. Η παρατήρηση αυτή δίνει το έναυσμα στους ερευνητές να θεωρούν τη λαπαροσκοπική χειρουργική θεραπεία εκλογής σε σηπτικούς ασθενείς καθώς και σε καρκινοπαθείς [69].

Κλινικές και πειραματικές μελέτες και αξιολόγηση της λαπαροσκοπησης στην ενδοκοιλιακή σήψη

Καθώς οι ενδείξεις για λαπαροσκοπικές επεμβάσεις πληθαίνουν, οι χειρουργοί αξιολογούν στην καθημερινή πράξη τις δυνατότητες και τα οφέλη της ελάχιστα επεμβατικής χειρουργικής. Σε μια προοπτική μελέτη λαπαροσκοπικά υποβοηθούμενης με δυο τροκάρ σκωληκοειδεκτομής ($n = 40$, 48.2%) έναντι της κλασσικής λαπαροσκοπικής σκωληκοειδεκτομής ($n = 43$, 51.8%) αξιολογήθηκε η καμπύλη εκμάθησης και επαναληψιμότητα της τεχνικής, η ασφάλεια και μετεγχειρητικό αποτέλεσμα σε 83 ασθενείς. Η επέμβαση σχετίστηκε με μειωμένο εγχειρητικό χρόνο και ταχύτερη επάνοδο στις καθημερινές δραστηριότητες των ασθενών στην ομάδα της λαπαροσκοπικά υποβοηθούμενης τεχνικής ($p < 0.001$ and $p = 0.038$, αντιστοίχως). Η λαπαροσκοπικά υποβοηθούμενη με δυο τροκάρ σκωληκοειδεκτομή φαίνεται να είναι μια υποσχόμενη ελάχιστα επεμβατική χειρουργική επέμβαση για την θεραπεία της οξείας σκωληκοειδίτιδας. Είναι ταχεία και εύκολη επέμβαση και αναμένεται να μειώσει το κόστος της λαπαροσκοπικής σκωληκοειδεκτομής. Αντένδειξη αποτελεί ο υψηλός δείκτης μάζας σώματος (BMI). Αναμένεται να αξιολογηθεί σε περιπτώσεις διάτρησης της απόφυσης και στις περιπτώσεις που η απόφυση είναι σε οπισθοτοφυλική θέση [70].

Το 2005 οι Golash et al. υποστήριξαν ότι η πρώιμη λαπαροσκοπηση ενδείκνυται σε περίπτωση οξέος κοιλιακού άλγους. Στις περιπτώσεις αυτές

ισχυρίστηκαν ότι η πρώιμη λαπαροσκόπηση προσφέρει την ταχύτερη διάγνωση και έχει υψηλή διαγνωστική ακρίβεια. Σε μια αναδρομική μελέτη 1320 ασθενών με οξύ κοιλιακό άλγος σε διάστημα 62 μηνών αξιολογήθηκε η κλινική διάγνωση σε αντιπαραβολή με την λαπαροσκοπική διάγνωση καθώς και το τελικό αποτέλεσμα. Όλοι οι ασθενείς χειρουργήθηκαν εντός 48 ωρών από την εισαγωγή τους. Τελική διάγνωση τέθηκε σε 90% των ασθενών μετά από διαγνωστική λαπαροσκόπηση. Η λαπαροσκόπηση άλλαξε την κλινική διάγνωση στο 30% των περιπτώσεων. Το 83% των ασθενών προχώρησε σε λαπαροσκοπική θεραπεία. Σε 7% των ασθενών η επέμβαση μεταβλήθηκε σε ανοικτή λαπαροτομία. Περιτονίτιδα είχε εγκατασταθεί σε 180 ασθενείς, 110 εκ των οποίων παρουσίαζε οξεία σκωληκοειδίτιδα. Επιπλοκές σχετιζόμενες με την διαγνωστική ή και θεραπευτική λαπαροσκόπηση εμφανίστηκαν σε 12 ασθενείς, ενώ υπήρξε και ένας θάνατος σε ασθενείς με διάτρηση στομάχου από καρκίνο [71].

Η θεραπεία της γενικευμένης περιτονίτιδας λόγω διάτρησης σε έδαφος εκκολπωματίτιδας είναι η λαπαροτομία και η εντεροστομία. Σε μια προοπτική μελέτη αξιολογήθηκε η δυνατότητα της λαπαροσκοπικής έκπλυσης της περιτοναϊκής κοιλότητας σε ασθενείς με διάτρηση εκκολπώματος. Μετατροπή σε επέμβαση Hartmann χρειάστηκε σε 8% των ασθενών. Οι λοιποί 92 ασθενείς υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπική έκπλυση του περιτοναίου με ποσοστά θνητότητας και νοσηρότητας 4% και 3%, αντίστοιχα. Δύο ασθενείς χρειάστηκαν μετεγχειρητική παρέμβαση λόγω αποστήματος στην πύελο. Μόνο δυο ασθενείς παρουσίασαν εκκολπωματίτιδα σε διάμεσο διάστημα

παρακολούθησης 36 μηνών (εύρος 72 μήνες) . Η θεραπεία της περιτονίτιδας λόγω εκκολπωματίτιδας είναι δυνατή με χαμηλό ποσοστό πρώιμης υποτροπής [72].

Άλλο πολύ σημαντικό ζήτημα στην αντιμετώπιση της ενδοκοιλιακής σήψης είναι η προσέγγιση της περιγεγραμμένης εστίας και της διάχυτης περιτονίτιδας. Η βιβλιογραφία δεν περιλαμβάνει ομοιογενείς απόψεις και πρέπει κανείς ανατρέχοντας στη βιβλιογραφία να εξετάζει και την υποκείμενη αιτία της περιτονίτιδας. Η συχνότερη αιτία περιτονίτιδας είναι η δευτεροπαθής περιτονίτιδα λόγω διάτρησης της σκωληκοειδούς απόφυσης απότοκος σκωληκοειδίτιδας, ενώ η δεύτερη συχνότερη αιτία είναι εκκολπωματίτιδα και η διάτρηση του κόλου. Ανάλογα με την υποκείμενη παθολογία οι ενδοκοιλιακές λοιμώξεις παρουσιάζουν διαφορετικά ποσοστά θνητότητας και νοσηρότητας. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην υποκείμενη πάθηση ή και στην ηλικιακή ομάδα στην οποία κάποια παθολογία εμφανίζεται συχνότερα.

Είναι κατανοητό ότι η θεραπεία της περιτονίτιδας δεν έχει ένα σημείο αναφοράς αλλά εξετάζεται σε κάθε περίπτωση η υποκείμενη νόσος. Έτσι μπορούμε να πούμε ότι μόνο η υποκείμενη νόσος μπορεί αποκλειστικά να αξιολογηθεί αν διαγιγνώσκεται και θεραπεύεται με την λαπαροσκοπική τεχνική. Για παράδειγμα η περιτονίτιδα οφειλόμενη στη διάτρηση της σκωληκοειδούς απόφυσης διαφέρει από την περιτονίτιδα που προκαλείτε από την διάτρηση του κόλου ή τη διάτρηση πεπτικού έλκους. Παράμετροι όπως η

υποκείμενη παθολογία, η ηλικία του ασθενούς σε συνάρτηση με τη γενική του κατάσταση και τις πιθανές συνυπάρχουσες επιβαρυντικές νόσους πρέπει να αξιολογούνται στην λήψη απόφασης θεραπείας ασθενούς πάσχοντος από περιτονίτιδα. Επιπροσθέτως πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η παρουσία ενός έμπειρου και άρτια εκπαιδευμένου λαπαροσκοπικού χειρουργού και η δυνατότητα υποστήριξης από την ομάδα του χειρουργείου.

Ασθενείς με εντοπισμένη σηπτική εστία είναι πολλές φορές καταλληλότερο να αντιμετωπίζονται δια διαδερμικής ακτινοσκοπικής παρακέντησης και παροχέτευσης του αποστήματος. Η διαδερμική παροχέτευση αποστήματος ενδείκνυται σε μονήρη αποστήματα στα οποία μπορούμε να έχουμε ασφαλή πρόσβαση. Ασθενείς με πολλαπλά αποστήματα, παρουσία νεκρωτικού ιστού ή παρουσία νεοπλάσματος είναι καταλληλότερο να αντιμετωπίζονται χειρουργικά [73].

Οι τεχνολογικές εξελίξεις και η πρόοδος στην ελάχιστη επεμβατική χειρουργική έχουν δείξει ότι έχει θέση στην θεραπεία της περιτονίτιδας και κυρίως στην περιτονίτιδα οφειλόμενη στην οξεία σκωληκοειδίτιδα [74]. Η λαπαροσκοπική σκωληκοειδεκτομή επιφέρει καλύτερο θεραπευτικό αποτέλεσμα ιδιαιτέρως σε ασθενείς με γαγγραινώδη περιτονίτιδα καθώς και στην πρώιμη διάτρηση και εντοπισμένη περιτονίτιδα. Στις περιπτώσεις διάχυτης περιτονίτιδας σύμφωνα με τους Liu et al., η λαπαροσκοπική αντιμετώπιση δεν ενδείκνυται καθώς δεν μπορεί να γίνει ικανοποιητική έκπλυση των περιεχομένων υγρών και των ιστικών ρακών της περιτοναϊκής

κοιλότητας [75]. Σε αντίθεση με τους Liu et al., άλλοι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι η λαπαροσκοπική χειρουργική προσφέρει τις ίδιες αν όχι περισσότερες δυνατότητες στον χειρουργό. Συγκεκριμένα, διατείνονται πως με τη λαπαροσκοπική προσέγγιση δίνεται η ευκαιρία στον χειρουργό να εξετάσει πιο ενδελεχώς την περιτοναϊκή κοιλότητα λόγω του άριστου πεδίου που δημιουργείται. Πολλοί ασθενείς μπορεί να μην παρουσιάζουν μια εμφανή διάτρηση αλλά μια περιοχή νέκρωσης, φλεγμονής, οιδήματος και ίσως κάποιο απόστημα. Οι ασθενείς αυτοί μπορεί να υποβληθούν σε λαπαροσκοπική έκπλυση του περιτοναίου και να τεθούν σε αντιβιοτική αγωγή. Έτσι δύναται σε δεύτερο χρόνο να προγραμματιστεί μια επέμβαση για την οριστική επίλυση της ασθένειάς τους όπως πχ μια σιγμοειδεκτομή για εκκολπωματική νόσο [76-78].

Ακόμη ένα μείζων ζήτημα είναι η ανάπτυξη λοίμωξης στα σημεία εισόδου των τροκάρ ή του port στην περίπτωση της υποβοηθούμενης λαπαροσκόπησης. Η πλειοψηφία των συγγραφέων υποστηρίζει ότι η καλή έκπλυση του περιτοναίου η χρήση συστήματος endobag και αντιβιοτικών περιορίζουν σημαντικά το πρόβλημα. Φαίνεται πως για τους περισσότερους χειρουργούς η λοίμωξη των σημείων εισόδου στην κοιλιά δεν αποτελεί πρόβλημα και την προτιμούν από μια πιθανή αντίστοιχη λοίμωξη μιας τομής λαπαροτομίας [79-81].

Σε μια μελέτη η οποία συμπεριέλαβε 935 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε επείγουσα επέμβαση στην κοιλιακή χώρα, οι 602 (64.3%) χειρουργήθηκαν

λαπαροσκοπικά, εκ των οποίων οι 112 (18.6%) έπασχαν από περιτονίτιδα. Σε μετα-ανάλυση, οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν σε πέντε ομάδες ανάλογα με τα διεγχειρητικά ευρήματα: διάτρηση γαστροδωδεκαδακτυλικού έλκους, σκωληκοειδίτιδα και φλεγμονή της πυέλου, ειλεός λεπτού εντέρου, χολοκυστίτιδα και διάτρηση του κόλου. Από το σύνολο αυτών, 112 παρουσίασαν οξεία κοιλία λόγω περιτονίτιδας. Το ποσοστό μετατροπής της επέμβασης σε ανοικτή έφτασε το 23.2%, η νοσηρότητα 12.5% και η θνητότητα 1.76%. Τελική διάγνωση τέθηκε σε 85.7% των ασθενών και το 90,6% έλαβε τη ενδεδειγμένη θεραπεία. Επιπροσθέτως οι Agresta et al. Έδειξαν ότι μεταξύ των ασθενών που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπική σκωληκοειδεκτομή το 9.4% είχε σημεία εντοπισμένης ή διάχυτης περιτονίτιδας. Οι ασθενείς αυτοί δεν παρουσίασαν μετεγχειρητικές λοιμώξεις, σε αντίθεση με το 6.1% από 242 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ανοικτή σκωληκοειδεκτομή ($p = 0.01$) [82]. Είναι φανερό ότι παρότι χρειάζονται και άλλα δεδομένα ώστε να μελετηθεί η λοίμωξη στα σημεία εισόδου των τροκάρ στην κοιλιακή χώρα, αυτό δεν αποτελεί ανάχωμα στην επιλογή της τεχνικής για την αντιμετώπιση των ενδοκοιλιακών λοιμώξεων.

Στην Ελλάδα αλλά και σε διεθνή κλίμακα δεν έχει γίνει μέχρι τώρα μια ανάλογη συγκριτική μελέτη της επίδρασης της λαπαροτομίας και λαπαροσκόπησης σε σηπτικούς ασθενείς. Πειράματα και μελέτες έχουν γίνει ξεχωριστά για κάθε μια τεχνική όσον αφορά, στο οξειδωτικό στρες, στην επίπτωση χρήσης συγκεκριμένων αερίων στην εγκατάσταση πνευμοπεριτοναίου, σε διάφορες παραμέτρους φλεγμονής, στην σχέση

ανοσοπαράλυσης και ενδοκοιλιακής σήψης. Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών δεν μπορούμε να έχουμε σαφή εικόνα και να συγκρίνουμε τα οφέλη της μιας ή της άλλης τεχνικής. Ακόμη μέχρι σήμερα δεν έχει γίνει επιτυχής προσπάθεια μεταφοράς εύχρηστων και αναίμακτων δεικτών στην κλινική πράξη, που θα διευκολύνουν τον χειρουργό να αποφασίσει κατά πόσον ο σηπτικός ασθενής μπορεί να υποβληθεί σε ερευνητική λαπαροτομία ή πρέπει να αντιμετωπισθεί ίσως πιο συντηρητικά με λαπαροσκοπική επέμβαση.

Συγκεκριμένα, έχουν γίνει προσπάθειες ανάπτυξης ενός προγνωστικού δείκτη λοίμωξης, “Prognostic index of surgical infections” (PISI) ασθενών οι οποίοι υπόκεινται σε χειρουργικούς χειρισμούς, με ευαισθησία 100% και ειδικότητα (specificity) 75% [83]. Έχει επιχειρηθεί η ανάπτυξη ενός αξιόπιστου μοντέλου για την γρήγορη διάγνωση ασθενών με συμπτώματα περιτονίτιδας και ενδοκοιλιακής σήψης, την κατάλληλη επιλογή ασθενών για επιθετικούς χειρουργικούς χειρισμούς και την σύγκριση της επίδρασης φαρμακευτικών σκευασμάτων στην ενδοκοιλιακή σήψη. Το συμπέρασμα της συγκεκριμένης μελέτης είναι ότι ο συνδυασμός της κλίμακας APACHE II (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation) και του δείκτη Mannheim Peritonitis Index (MPI) παρέχει αξιόπιστες κλινικές πληροφορίες [84].

Επιπλέον, έχει διεξαχθεί μελέτη σε ασθενείς με διάτρηση του παχέος εντέρου, όσον αφορά στην προγνωστική συσχέτιση διαφόρων παραγόντων και στον προσδιορισμό των ασθενών υψηλού κινδύνου. Στην μελέτη αυτή οι

μόνοι παράγοντες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο είναι: η ηλικία άνω των 65 ετών, η δυσλειτουργία εσωτερικών οργάνων και ο δείκτης MPI (Manheimer Peritonitis Index). Η πορεία των ασθενών κατ' αυτή τη μελέτη καθορίζεται από την σοβαρότητα της σήψης, ενώ η υποκείμενη παθολογία και βαθμός της περιτονίτιδας δεν επηρέασαν σημαντικά την επιβίωση αυτών [85]. Σε άλλη μελέτη βλέπουμε ότι η IL-6 δεν μπορεί να χαρακτηριστεί κλινικά αξιόπιστος προγνωστικός δείκτης στην ενδοκοιλιακή σήψη [86]. Παρόλα αυτά η IL-6 σύμφωνα με την μελέτη αυτή είναι καλύτερος προγνωστικός δείκτης από την κλίμακα APACHE II καθώς παρουσιάζει μεγαλύτερη εξειδίκευση και ευαισθησία [87].

Στο σηπτικό σοκ, η μειωμένη έκφραση HLA-DR στα μονοκύτταρα έχει προταθεί ως δείκτης ανοσοπαράλυσης και αυξημένης θνησιμότητας. Ειδικότερα, η μειωμένη έκφραση HLA-DR στα μονοκύτταρα (< 50%) 9 ημέρες από την εισαγωγή των ασθενών σχετίστηκε με θνησιμότητα των ασθενών. Η μελέτη αυτή αποτυπώνει την ανοσοπαράλυση στους σηπτικούς ασθενείς και επιβεβαιώνει την ανάγκη για περαιτέρω έρευνα στην έκφραση του HLA-DR των μονοκυττάρων στη σήψη [88].

Τέλος, σε πειραματικό μοντέλο σήψης δύο ημέρες μετά την εγκατάσταση αυτής, διαπιστώθηκε κατάσταση ανοσοπαράλυσης χαρακτηριζόμενη από αδυναμία παραγωγής TNF σε πειραματόζωα. Για να διαπιστωθούν οι λόγοι της καταστολής της παραγωγής TNF και αν η υποκατάσταση του παράγοντα μπορεί να έχει θεραπευτικά αποτελέσματα

επιχειρήθηκε η επιλοίμωξη μέσω της επιμόλυνσης των πειραματόζων με *Salmonella enterica* Serovar *typhimurium* ή *Listeria monocytogenes* δυο ημέρες μετά την αρχική εγκατάσταση σήψης με CLP. Το αποτέλεσμα ήταν μια κατάσταση σχεδόν απόλυτης ανοσοπαράλυσης, αυξημένη θνησιμότητα των πειραματόζων και αύξηση του βακτηριακού φορτίου σε σπλήνα και ήπαρ. Η ένεση ανασυνδιασμένου ανθρώπινου TNF πριν και κατά τη διάρκεια της επιλοίμωξης προσέφερε προστασία από την *Salmonella* αλλά όχι και από την *Listeria*. Παραδόξως τα πειραματόζωα που είχαν επιμολυνθεί με *Listeria* παρουσίασαν αυξημένη θνησιμότητα. Το συμπέρασμα της έρευνας ήταν ότι η υποκατάσταση του TNF στην ανοσοπαράλυση μπορεί να είναι ευεργετική αλλά και καταστροφική, ανάλογα με τον τρόπο δράσης του TNF στο πειραματόζωο, την επιλογή της χρονικής στιγμής της υποκατάστασης ή τον παράγοντα επιμόλυνσης. Επίσης διαπιστώνεται η ανάγκη για την χρήση κατάλληλων διαγνωστικών παραμέτρων για την ασφαλή θεραπεία υποκατάστασης TNF στη σήψη[89].

Αντικείμενο και στόχοι του έργου

Αναλυτική επεξήγηση του τρόπου αξιοποίησης των αποτελεσμάτων του ερευνητικού έργου και αναμενόμενα οφέλη.

Αντικείμενο του έργου είναι η αξιολόγηση παραμέτρων σήψης μεταξύ λαπαροτομίας και λαπαροσκοπικής σε επίμυες Wistar που καθίστανται σηπτικοί μετά τον ενοφθαλμισμό βακτηρίου στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Στόχος μας, είναι να διερευνηθεί αν στους πάσχοντες από ενδοκοιλιακή σήψη, η λαπαροσκοπική χειρουργική προσέγγιση διαφέρει της λαπαροτομίας ως προς την επίπτωση στην τελική έκβαση του σηπτικού συνδρόμου. Παράλληλα επιδιώκεται να καθορισθεί αν κάποιοι δείκτες φλεγμονής μπορούν να αξιολογηθούν για περαιτέρω εφαρμογές στην κλινική πράξη ως δείκτες βαρύτητας της σήψης ή προσδόκιμου επιβίωσης σε ασθενείς με ενδοκοιλιακή σήψη. Οι δείκτες αυτοί είναι πιθανό να αποτελέσουν εργαλείο εκτίμησης της σοβαρότητας της νόσου του πάσχοντος, στα χέρια του χειρουργού ο οποίος θα αποφασίζει με μεγαλύτερη ασφάλεια ποιοι ασθενείς με ενδοκοιλιακή σήψη μπορούν να υποβληθούν σε λαπαροτομία ή πρέπει να αντιμετωπισθούν πιο συντηρητικά με λαπαροσκοπική επέμβαση.

Ο σκοπός της μελέτης όπως προαναφέρθηκε είναι να συσχετιστεί η πιθανή επίδραση των λαπαροσκοπικών χειρισμών ή της λαπαροτομίας στην προκληθείσα περιτονίτιδα.

Σε μη επείγοντα χειρουργεία (χολοκυστεκτομή λόγω χολολιθίασης, αφαίρεση κύστης από ωοθήκη...) θεωρείται πως η λαπαροσκόπηση εν σχέση με την λαπαροτομία είναι η επέμβαση εκλογής καθώς προσφέρει:

- την ταχύτερη επούλωση των τομών προσπέλασης
- την μηδαμινή πιθανότητα επιλοκών (λοίμωξη τραύματος, διάσπαση τραύματος, κοιλιοκήλη) προερχόμενων εκ των τομών προσπέλασης στη λαπαροσκόπηση
- το λιγότερο πόνο κατά τη μετεγχειρητική περίοδο
- το ανώτερο αισθητικό αποτέλεσμα
- την ταχύτερη επάνοδο στην καθημερινότητα των ασθενών που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπική διερεύνηση περιτονίτιδας

Είναι προφανές ότι η μέθοδος αυτή θα ήταν η βέλτιστη για την αντιμετώπιση όσων ασθενών χρήζουν διερεύνησης της περιτοναϊκής κοιλότητας ακόμη και σε περιπτώσεις περιχαρακωμένης φλεγμονής ή ακόμη και περιτονίτιδας. Η πεποίθηση αυτή μπορεί να λάβει σάρκα και οστά εφόσον αποδειχθεί ότι η λαπαροσκόπηση δεν αποτελεί αντένδειξη στην αντιμετώπιση της περιτονίτιδας. Είναι σαφές ότι πρέπει να μελετηθούν οι τεχνικές δυνατότητες της λαπαροσκόπησης και αν δύναται να εκτελεστούν συνήθεις θεραπευτικοί χειρισμοί όπως η ικανοποιητική έκπλυση της περιτοναϊκής κοιλότητας.

Ακόμη είναι επιθυμητή η ανάδειξη της συσχέτισης των κυττοκινών MCP-1 και IL-18 στην περιτονίτιδα και πώς μεταβάλλονται οι τιμές τους στον ορό των ζωικών προτύπων κατά την λαπαροτομή και την λαπαροσκόπηση.

Ο συνδυασμός των αποτελεσμάτων του πειράματος και των ήδη γνωστών προτερημάτων της λαπαροσκοπικής επέμβασης, θα ενισχύσουν την άποψη εκείνων που υποστηρίζουν την υπεροχή της λαπαροσκόπησης έναντι της λαπαροτομίας σε σηπτικούς ασθενείς με οξεία κοιλία.

Ορισμός Σήψης και Σηπτικής Καταπληξίας

Η σηψαιμία και η σηπτική καταπληξία είναι δραματικά κλινικά σύνδρομα που προκαλούνται από την οξεία εισβολή ορισμένων μικροοργανισμών ή των τοξικών προϊόντων τους στην κυκλοφορία του αίματος. Η γενικευμένη αντίδραση στην μικροβιακή εισβολή περιλαμβάνει ένα φάσμα κλινικών εκδηλώσεων που αρχίζει από το σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (SIRS) και καταλήγει στο σύνδρομο ανεπάρκειας πολλαπλών οργάνων (MODS). Πυρετός, ρίγη, ταχυκαρδία, ταχύπνοια και διαταραχές του επιπέδου συνείδησης είναι συχνές οξείες εκδηλώσεις της σηψαιμίας. Όταν εμφανίζεται υπόταση και ανεπαρκής αιμάτωση των οργάνων, η κατάσταση ονομάζεται σηπτική καταπληξία [90] ή σηπτικό σύνδρομο [91].

Η κυκλοφορική ανεπάρκεια χαρακτηρίζεται από ελαττωμένη συστηματική αγγειακή αντίσταση, μειωμένη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου, λίμναση και διαταραχή της κατανομής του αίματος στη μικροκυκλοφορία. Αναπτύσσεται διάχυτη βλάβη κυττάρων και ιστών και, τελικά, εκτεταμένη ανεπάρκεια οργάνων. Ακόμη και με κατάλληλη αντιμικροβιακή και υποστηρικτική αγωγή, πολλοί ασθενείς αποβιώνουν από σηπτική καταπληξία, γεγονός που καθιστά τις στρατηγικές για την πρόληψη και αποτελεσματικότερη θεραπεία καθοριστικής σημασίας [92].

Κριτήρια σήψης
Γενικές παράμετροι
Υπερπυρεξία ($> 38.3^{\circ}\text{C}$)
Υποθερμία ($< 36^{\circ}\text{C}$)
Ταχυκαρδία $> 90/\text{min}$
Ταχύπνοια
Διαταραχές συνείδησης
Εξεσημασμένο οίδημα ή θετικό ισοζύγιο υγρών ($> 20 \text{ mL/kg over } 24 \text{ hr}$)
Υπεργλυκαιμία (glucose $> 140 \text{ mg/dL}$) σε μη σακχαροδιαβητικούς
Δείκτες φλεγμονής
Λευκοκυττάρωση (WBC count $> 12,000 \mu\text{L}^{-1}$)
Λευκοπενία (WBC count $< 4000 \mu\text{L}^{-1}$)
Φυσιολογικά WBC's αλλά πάνω από 10% άωρα
CRP πλάσματος διπλάσια του φυσιολογικού
Procalcitonin πλάσματος διπλάσια του φυσιολογικού
Αιμοδυναμικές παράμετροι
Αρτηριακή υπόταση (SBP $< 90 \text{ mm Hg}$, MAP $< 70 \text{ mm Hg}$, ή SBP decrease $> 40 \text{ mm Hg}$)
Δείκτες ανεπάρκειας οργάνων
Αρτηριακή υποξαιμία ($\text{PaO}_2/\text{Fio}_2 < 300$)
Οξεία ολιγουρία ($< 0.5 \text{ mL/kg/hr}$ 2 ώρες μετά από αποκατάσταση υγρών)
Αύξηση κρεατινίνης $> 0.5 \text{ mg/dL}$ or $44.2 \mu\text{mol/L}$
Διαταραχές μηχανισμού πήξης (INR > 1.5 or aPTT $> 60 \text{ s}$)
Ειλεός
Θρομβοπενία (platelet count $< 100,000 \mu\text{L}^{-1}$)
Υπερχολερυθρουναίμια (plasma total bilirubin $> 4 \text{ mg/dL}$ or $70 \mu\text{mol/L}$)
Δείκτες ιστικής υποξίας
Υπεργαλακταιμία Hyperlactatemia ($> 1 \text{ mmol/L}$)
Μειωμένη τριχοειδική επαναπλήρωση

Πιν. 2: Κριτήρια Σήψης

[93]

Οι εκδηλώσεις της σήψης στα ζωτικά όργανα

Πνευμονικές εκδηλώσεις

Μια από τις κυριότερες επιπτώσεις της σήψης στον ασθενή είναι οι πνευμονικές εκδηλώσεις. Οι πρωϊμότερες εκδηλώσεις της σήψης είναι η ταχύπνοια και η αναπνευστική αλκάλωση. Αρχικά η pCO_2 είναι ελαττωμένη, καθώς όμως το σύνδρομο εξελίσσεται η pCO_2 αυξάνεται, ενώ η pO_2 ελαττώνεται. Η αυξημένη διαπερατότητα των τριχοειδών συνεπάγεται την εμφάνιση ενός μη καρδιογενούς πνευμονικού οιδήματος το οποίο αναφέρεται και ως «σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας των ενηλίκων» (ARDS, adult respiratory distress syndrome) [94].

Σε σύγκριση ασθενών που υπεβλήθησαν σε λαπαροτομία και λαπαροσκοπική επέμβαση, δεν σημειώθηκαν αξιόλογες διαφορές στην λειτουργία του αναπνευστικού, εκτός της σημαντικής νοσηρότητας που παρουσίασε η ομάδα των λαπαροτομών [95]. Σε άλλη μελέτη η λειτουργία των πνευμόνων και η αρτηριακή μερική πίεση οξυγόνου μειώνεται σαφώς λιγότερο στο λαπαροσκοπικό χειρουργείο εν σχέση με την κλασσική λαπαροτομή [96].

Στη λαπαροσκόπηση παρατηρείται ελαφρά αναπνευστική οξέωση κατά τη διάρκεια του χειρουργείου ενώ δεν έχουν παρατηρηθεί σημαντικές αλλαγές σε λαπαροτομές [97]. Τέλος η δυναμική ζωτική χωρητικότητα (FVC) παρουσιάζει μεγαλύτερη μείωση(μέχρι και δυο ώρες μετά την επέμβαση σε ασθενείς που υποβάλλονται σε λαπαροτομικό χειρουργείο [98].

Καρδιοαγγειακές εκδηλώσεις

Στο σπηπτικό ασθενή εμφανίζεται ένα «σύνδρομο γενικευμένης καρδιαγγειακής ανεπάρκειας», το οποίο χαρακτηρίζεται από μια αρχική φάση αγγειοδιαστολής, ακολουθούμενη στη συνέχεια από αγγειοσυσπασση. Η βασική διαταραχή συνίσταται σε ένα γενικευμένο σύνδρομο τριχοειδικής διαφυγής, λόγω της ενδοθηλιακής βλάβης. Το σπηπτικό σοκ είναι αποτέλεσμα της ελάττωσης των συστηματικών αγγειακών αντιστάσεων και του ενδαγγειακού όγκου, καθώς επίσης και της διαταραχής της κατανομής της αιματικής ροής.

Η προοδευτική ελάττωση των συστηματικών αγγειακών αντιστάσεων συνεπάγεται τη μείωση του δραστικού αγγειακού όγκου και συνοδεύεται από αντιρροπιστική αύξηση της καρδιακής παροχής. Έτσι, αρχικά η μέση πίεση (ΜΑΠ) διατηρείται φυσιολογική, ενώ στη φάση αυτή οι ασθενείς ανταποκρίνονται στη χορήγηση υγρών. Ο συνδυασμός φυσιολογικής ή υψηλής καρδιακής παροχής και ελαττωμένων συστηματικών αγγειακών αντιστάσεων διακρίνει το σπηπτικό από το καρδιογενές και το υποογκαιμικό σοκ. Με την εξέλιξη του σπηπτικού σοκ, οι περιφερικές αντιστάσεις ελαττώνονται ακόμη περισσότερο και επέρχεται σημαντική καρδιακή καταστολή, όπως φαίνεται από την ελάττωση του κλάσματος εξώθησης και την αύξηση του τελοδιαστολικού και του συστολικού κοιλιακού όγκου. Η καρδιακή παροχή διατηρείται παρά την ελάττωση του κλάσματος εξώθησης λόγω της κοιλιακής διάτασης. Η ΜΑΠ αρχίζει να ελαττώνεται, αλλά

παρατηρείται ακόμη ανταπόκριση στην αποκατάσταση του όγκου των υγρών. Στην επόμενη φάση οι συστηματικές αγγειακές αντιστάσεις αρχίζουν να αυξάνουν λόγω της διέγερσης των α-αδρενεργικών υποδοχέων, ενώ η καρδιακή παροχή και ο καρδιακός δείκτης αρχίζουν να ελαττώνονται. Η αιμοδυναμική παρακολούθηση στη φάση αυτή καθίσταται αναξιόπιστη λόγω της σοβαρής κοιλιακής δυσλειτουργίας [99].

Έχει βρεθεί σε μελέτες που έχουν διεξαχθεί για την αξιολόγηση της τροπονίνης ως προγνωστικό δείκτη θνησιμότητας σε ασθενείς χωρίς στεφανιαία νόσο αλλά με απειλητική για τη ζωή νόσο ότι αποτελεί όντως δείκτη θνησιμότητας ειδικά σε άτομα που εισάγονται σε μονάδα εντατικής θεραπείας και σχετίζεται με την μειωμένη λειτουργία της αριστερής κοιλίας και υψηλά επίπεδα TNF-α και IL-6 [100].

Νεφρικές εκδηλώσεις

Η ολιγουρία και η προνεφρική οξεία νεφρική ανεπάρκεια αποτελούν σταθερό εύρημα του σηπτικού συνδρόμου και συνοδεύονται από την αύξηση ουρίας και κρεατινίνης. Η παρατεταμένη νεφρική ισχαιμία συνεπάγεται οξεία σωληναριακή νέκρωση και στις βαριές περιπτώσεις, αμφοτερόπλευρη φλοιϊκή νέκρωση[101].

Η λαπαροτομή επηρεάζει τα αγγειακά συμβάσματα που προκαλεί το σηπτικό σοκ σε πειραματικό μοντέλο σήψης με επίμυες, γεγονός που

αποτυπώνεται με την πτώση του ρυθμού σπειραματική διήθησης και τη συνοδό αύξηση της ουρίας και της κρεατινίνης του αίματος [102].

Γαστρεντερικό σύστημα

Είναι γνωστό ότι η λειτουργία του εντέρου επηρεάζεται από την σήψη. Μειώνεται η ικανότητά του να λειτουργεί ως φραγμός και μεταβολικό όργανο. Έχει παρατηρηθεί σημαντική δυσαπορρόφηση αμινοξέων σε πειραματικά μοντέλα σήψης [103,104], ενώ έχει δειχθεί ότι η πρώτη κένωση έρχεται σημαντικά γρηγορότερα μετά από λαπαροσκοπική επέμβαση [105].

Η ενδοκοιλιακή σήψη επηρεάζει την δυνατότητα σύνθεσης κολλαγόνου στο κόλον και θεωρείται γενικά αντένδειξη για την αναστόμωση εντέρου σε πρώτο χρόνο. Η ενδοκοιλιακή σήψη αναστέλλει την σύνθεση κολλαγόνου και πρωτεϊνών. Επιπλέον η ρύθμιση των τύπου I και III γονιδίων κολλαγόνου μεταβάλλεται σε περίπτωση ενδοκοιλιακής σήψης, γεγονός που πιθανώς συμβάλλει στην αναστολή της σύνθεσης κολλαγόνου. Αποτέλεσμα αυτού είναι η μειωμένη μηχανική δύναμη των σημείων αναστόμωσης ή των σημείων επούλωσης του εντέρου[106,107]. Ένας χρήσιμος δείκτης εντερικής ισχαιμίας είναι η αύξηση του κλάσματος γαλακτικού οξέος προς πυροσταφυλικό ενώ για την εκτίμηση της καταστροφής των μεμβρανών των εντερικών κυττάρων είναι η αύξηση της γλυκερόλης [108].

Εκδηλώσεις από το Αιμοποιητικό σύστημα

Η λευκοκυττάρωση με πολυμορφοπυρήνωση και η “στροφή προς τα αριστερά” του τύπου των λευκών αποτελεί χαρακτηριστικό εύρημα και σημαντικό διαγνωστικό κριτήριο.

Η θρομβοπενία παρουσιάζεται στο 10-30% των ασθενών και αποτελεί συχνά πρώιμο δείκτη της σήψης , ενώ συνδυάζεται με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης συνδρόμου αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) και σηπτικό σοκ [109].

Ηπατική δυσλειτουργία

Ενδεικτική της βαρύτητας του σηπτικού συνδρόμου είναι η αύξηση των τρανσαμινασών του ορού (SGOT, SGPT γ-Gt), καθώς επίσης και η υπερχολερυθριναιμία [110].

Οξεοβασική ισορροπία

Η αρχική εικόνα του σηπτικού ασθενούς είναι αυτή της αναπνευστικής αλκάλωσης ($\text{pH} > 7.4$), λόγω υπεραερισμού. Στη συνέχεια όμως το pH αρχίζει να ελαττώνεται λόγω της γαλακτικής οξέωσης που προκαλεί η ιστική ισχαιμία και το αυξημένο έργο των αναπνευστικών μυών, σε συνδυασμό με την ελαττωμένη απομάκρυνσή του από το ήπαρ και του νεφρούς [111].

Φλεγμονώδης αντίδραση του οργανισμού και απάντηση στη σήψη

Κυρίαρχο ρόλο στην παθογένεση του σηπτικού συνδρόμου έχουν οι κυτταροκίνες IL1, IL6, TNF-α, [112,113], αλλά και μια πλειάδα άλλων παραμέτρων οι οποίες δρουν είτε αυξάνοντας την φλεγμονώδη αντίδραση του οργανισμού, είτε καταστέλλοντάς την.

IL-1

Τα μονοκύτταρα είναι η κύρια πηγή παραγωγής IL-1. Παράγεται όμως και από μια πληθώρα άλλων κυττάρων όπως τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, τα λεμφοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και άλλα.

Η σύνθεση της IL-1 προάγεται από άλλες κυτταροκίνες, συμπεριλαμβανομένων των TNF-α, INF-α, INF-β, INF-γ, καθώς και από βακτηριακές ενδοτοξίνες, ιούς και μιτογόνα. Η παραγωγή της IL-1 ελέγχεται από ένα πολύπλοκο μηχανισμό ανατροφοδότησης καθώς έχει την ιδιότητα να προάγει και να αναστέλλει την ίδια της την σύνθεση ανάλογα με τις εκάστοτε συνθήκες [114,115].

Η κυρίαρχη βιολογική της δράση συνίσταται στην ενεργοποίηση των Τ βοηθητικών λεμφοκυττάρων, η IL-1 δρα άμεσα στα Β λεμφοκύτταρα αυξάνοντας τον πολλαπλασιασμό τους και την παραγωγή ανοσοσφαιρινών.

Τέλος ενεργοποιεί τον πολλαπλασιασμό και την δραστηριότητα των κυττάρων φυσικών φονέων. Η IL-1 είναι ένα ισχυρός χημειοτακτικός

[80]

παράγοντας των λευκοκυττάρων και αυξάνει τον οξειδωτικό μεταβολισμό των ουδετερόφιλων. Η κυτταροκίνη αυτή όπως και η IL-6 προάγουν τη σύνθεση ACTH, αυξητικής ορμόνης, CRF από την υπόφυση. Η IL-1 υποβοηθά στην διαδικασία της επούλωσης μέσω αύξησης της αγγειογένεσης, του πολλαπλασιασμού των ινοβλαστών και της χημειοτακτικής δράσης που ασκεί στα ουδετερόφιλα. Η κλινική εφαρμογή της IL-1 δυσχεραίνεται από την υψηλή τοξικότητα της, καθώς ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις προκαλεί σηπτική καταπληξία [116-122].

Σε πειραματική μελέτη σύγκρισης λαπαροτομίας και λαπαροσκόπησης παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα IL-1 ήταν αυξημένα περισσότερο στη ομάδα λαπαροτομής 24 ώρες μετά την επέμβαση[122]. Σε πειραματικό μοντέλο σήψης στο οποίο συγκρίθηκε η λαπαροτομία και λαπαροσκόπηση διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα της IL-1 στον ορό και στο περιτοναϊκό υγρό ήταν σημαντικά χαμηλότερα στις 24 και 72 ώρες στις ομάδες λαπαροσκόπησης[123].

IL-6

Άλλη μια κυτταροκίνη η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη παθοφυσιολογία της σήψης είναι η IL6. Παράγεται κυρίως από ενεργοποιημένα μονοκύτταρα, ινοβλάστες και ενδοθηλιακά κύτταρα. Μπορεί όμως να παραχθεί, κατόπιν διέγερσης και από τα μακροφάγα, τα T και B λεμφοκύτταρα και άλλα. Φυσιολογικά ερεθίσματα για τη σύνθεση της IL-

βείναι η IL1, οι βακτηριακές ενδοτοξίνες, ο TNF, ο PDGF και η ογκοστατίνη Μ. Άλλο ένα σημείο παραγωγής της είναι ο πρόσθιος λοβός της υπόφυσης [124-126].

Η βιολογική δράση της IL-6 περιλαμβάνει τη διέγερση πολλαπλασιασμού των Β λεμφοκυττάρων, την παραγωγή Β ανοσοσφαιρινών και την έναρξη αντίδρασης οξείας φάσης. Η IL-6 επηρεάζει το κεντρικό νευρικό σύστημα μέσω της ενεργοποίησης του άξονα υποθάλαμου υπόφυσης επινεφριδίων [127].

Όπως και η IL-1, η IL-6 προάγει τη σύνθεση ACTH από την υπόφυση. Τα γλυκοκορτικοειδή που παράγονται από το ερέθισμα της ACTH αναστέλλουν την παραγωγή IL6, IL-1 και TNF θεσπίζοντας έτσι ένα μηχανισμό αρνητικής ανατροφοδότησης ανάμεσα στο ανοσοποιητικό και στο νευροενδοκρινικό σύστημα [128-134].

Οι αντιδράσεις στρες ανευρίσκονται σε πολλές καταστάσεις όπου συνυπάρχει αύξηση της IL-6 και της θερμοκρασίας του σώματος. Παραδείγματα αποτελούν το έγκαυμα και η σήψη. Αυτές οι περιπτώσεις συνοδεύονται από υψηλά επίπεδα αδρεναλίνης και κορτικοστεροειδών. Η αδρεναλίνη προκαλεί την έκκριση IL-6 και η δράση αδρεναλίνης στην IL-6 αποδείχθηκε ότι αναστέλλεται με τη χρήση προπανολόλης. Όταν η έκκριση της IL-6 αναστέλλεται κατ' αυτόν τον τρόπο, καταστέλλεται και η έκκριση των πρωτεϊνών οξείας φάσης [135]. Σε συγκριτική μελέτη λαπαροτομικής και λαπαροσκοπικής επέμβασης σε πειραματικό μοντέλο διαπιστώθηκε ότι η IL-6

παρουσιάζει σαφώς υψηλότερα επίπεδα μετά από λαπαροτομή [136]. Σε πειραματικό μοντέλο σήψης στο οποίο συγκρίθηκε η λαπαροτομία και λαπαροσκόπηση διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα της IL-6 στον ορό και στο περιτοναϊκό υγρό μειώθηκαν απότομα στις 24 και 72 ώρες στις ομάδες λαπαροσκόπησης [137]. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν ανευρεθεί και σε ασθενείς που υποβλήθηκαν επειγόντως σε λαπαροτομία ή λαπαροσκόπηση λόγω οξείας κοιλίας [138], αλλά και σε προγραμματισμένα χειρουργεία [139,140]. Τέλος έχει διαπιστωθεί ότι συγκέντρωση της IL-6 αποδίδει με μεγαλύτερη ευαισθησία από τις κατεχολαμίνες το εύρος του χειρουργικού τραύματος [141].

TNF- α

Ακόμα μια σημαντική παράμετρος στην παθογένεση της σήψης είναι ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF). Ο TNF παράγεται από μακροφάγα, μονοκύτταρα, T λεμφοκύτταρα και κύτταρα φυσικούς φονείς κατόπιν ερεθίσματος από βακτηριακές λιποπολυσακχαρίτες. Η σύνθεση του TNF- α προάγεται από ερεθίσματα όπως οι ιντερφερόνες, IL2, GM-CSF, SP, βραδυκινίνες, ανοσοσυμπλέγματα, αναστολείς της κυκλοοξυγενάσης και ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Η παραγωγή της αναστέλλεται από την IL6, τον TGF- β , την βιταμίνη D3, τη προσταγλανδίνη E2, τη δεξαμεθαζόνη και την κυκλοσπορίνη A [142].

Ο TNF-α παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων. Ο παράγοντας αυτός προάγει τη φαγοκυττάρωση και την κυτταροτοξική δράση των ουδετερόφιλων, ενώ παράλληλα ρυθμίζει την έκφραση πολλών πρωτεϊνών όπως αυτή των fos, myc, IL-1 και IL-6. Στα μακροφάγα, ο TNF προάγει τη σύνθεση IL-1 και προσταγλανδίνης E2 και διεγείρει την φαγοκυττάρωση και την παραγωγή υπεροξειδισμού. Άλλη μια σημαντική δράση του είναι η προαγωγή της παραγωγής IL-1, IFN-γ και προϊόντων μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος από τα λευκοκύτταρα. Η IL-6 καταστέλλει τη σύνθεση TNF που προκαλείται από ενδοτοξίνες. Παρουσία της IL-6, ο TNF προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των Β λεμφοκυττάρων [143,144].

Σε συγκριτική μελέτη λαπαροτομής και λαπαροσκόπησης η οποία πραγματοποιήθηκε σε πειραματικά μοντέλα σήψης ανευρέθη ότι τα επίπεδα του TNF-α αυξάνονται σαφώς περισσότερο μετά από λαπαροτομή [145,146].

Σε άλλη συγκριτική μελέτη διαπιστώθηκε ότι το επίπεδο της καταστολής του TNF-α στην ομάδα ανοικτής επέμβασης ήταν σημαντικά υψηλότερο [147].

IL-10

Η IL-10 παράγεται κυρίως από τα Τ λεμφοκύτταρα τρωκτικών μετά την επίδραση λεκτινών. Η κύρια πηγή παραγωγής IL-10 προερχόμενης από Β κύτταρα είναι τα Ly-1 (B1) κύτταρα τα οποία φέρουν CD5 και CD11 υποδοχείς. Επίσης παράγεται από κερατινοκύτταρα των τρωκτικών. Η

ανθρώπινη IL-10 είναι κατά 81% ομόλογη της IL-10 των τρωκτικών σε επίπεδο νουκλεοτιδίων και 73% σε επίπεδο αμινοξέων.

Ανάμεσα στις κύριες βιολογικές της δράσεις είναι η αναστολή της σύνθεσης κυτταροκινών όπως η INF γ , η IL-2 και ο TNF β στον υποπληθυσμό των Th-1 T βοηθητικών κυττάρων. Τη δράση αυτή ανταγωνίζεται η IL-4. Η ανασταλτική δράση της στην παραγωγή INF- γ είναι έμμεση και φαίνεται ότι σχετίζεται με την καταστολή της παραγωγής IL-12 από επικουρικά κύτταρα. Σε μακροφάγα τα οποία ενεργοποιούνται από βακτηριακούς λιποπολυσακχαρίτες η IL-10 αναστέλλει την παραγωγή IL-1, IL-6 και TNF α καθώς αποσυνθέτει το mRNA των κυττοκινών. Η IFN- γ προάγει τη σύνθεση IL-6 καταστέλλοντας την σύνθεση της IL-10.

Σε *in vivo* πειράματα έχει αποδειχθεί ότι η IL-10 καταστέλλει την έκκριση TNF- α και προστατεύει από ενδοτοξίνες που εκλύονται σε πειραματικό σηπτικό μοντέλο αν χορηγηθεί προτού επιχειρηθεί η εγκατάσταση σήψης. Τα Ly-1 κύτταρα των τρωκτικών είναι η κύρια πηγή IL-10. Σε αντίθεση με τα φυσιολογικά B κύτταρα, τα Ly1 B κύτταρα εκφράζουν αυξημένα επίπεδα IL-10 και έχουν την χαρακτηριστική ιδιότητα της αυτοσυντήρησης. Η συνεχής αγωγή νεογέννητων τρωκτικών με αντισώματα anti-IL10 οδηγεί στην μείωση των Ly-1 B κυττάρων ενώ ο αριθμός των B σπληνικών κυττάρων παραμένει σταθερός. Τα πειραματόζωα αυτά είχαν μειωμένα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης M καθώς και μειωμένη απάντηση αντισωμάτων σε συγκεκριμένα αντιγόνα. Κατ'αυτό τον τρόπο φαίνεται ότι η

IL-10 είναι ρυθμιστικός παράγοντας για την ανάπτυξη των Ly-1 B κυττάρων. Ο μηχανισμός της μείωσης των Ly-1 B κυττάρων σχετίζεται με την αυξημένη παραγωγή IFN γ , καθώς η συγχορήγηση anti-IFN γ αντισωμάτων επαναφέρει τα επίπεδα Ly-1 B κυττάρων σε φυσιολογικά επίπεδα.

Μεταξύ άλλων, η IL-10 έχει ανασταλτική δράση στο μηχανισμό παρουσίασης αντιγόνων, είναι φυσικός ανταγωνιστής της IL-12, συμβάλλει στον πολλαπλασιασμό των σιτευτικών-μαστοκυττάρων και των περιφερικών λεμφοκυττάρων, ενώ μπορεί να αναστείλει την ενεργοποίηση των μακροφάγων. Η IL-10 προάγει την έκφραση των MHC class II αντιγόνων στα B κύτταρα ενώ καταστέλλει την έκφρασή τους στα μονοκύτταρα. Στα B κύτταρα τα οποία ενεργοποιούνται μέσω των υποδοχέων αντιγόνων που διαθέτουν ή μέσω του CD40, η IL-10 προάγει την έκκριση IgG, IgA IgM. Η δράση αυτή ενισχύεται από την IL-4 και ανταγωνίζεται από τον TGF β . Η transgenic έκφραση IL-10 στα νησίδια του Langerhans μιας ομάδας διαγονοδιακών μυών έδειξε ότι οδηγεί σε εκσεσημασμένη φλεγμονή στο πάγκρεας, χωρίς την ύπαρξη φλεγμονής στα νησίδια του Langerhans και εγκατάσταση διαβήτη. Η συγκέντρωση αυτή των φλεγμονωδών κυττάρων έρχεται σε αντίθεση με τις βιολογικές δράσεις της IL-10 *in vitro*, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η IL-10 έχει ισχυρή ανοσοκατασταλτική δράση.

Έχει διαπιστωθεί ότι η IL-10 είναι βασικός ανοσορρυθμιστικός παράγοντας στο γαστρεντερικό σύστημα. Η γενικευμένη φλεγμονώδης αντίδραση στο έντερο πειραματόζωων με έλλειψη IL-10 οφείλεται σε ανεξέλεγκτες

φλεγμονώδεις αντιδράσεις οι οποίες προάγονται από εντερικά παθογόνα. Τα επίπεδα IL-12 και IFN γ στον ορό των ζώων αυτών ήταν 4 με 6 φορές υψηλότερες από την ομάδα ελέγχου. Ενεργοποιημένα μακροφάγα αυτών των ζώων παράγουν υψηλότερα επίπεδα TNF- α και IL-12 εν σχέση με τα μακροφάγα των ζώων ομάδας ελέγχου. Επίσης τα επίπεδα IFN γ που παράχθηκαν από τα σπληνοκύτταρα των ζώων που στερούνται IL-10 ήταν πολύ υψηλότερα από την ομάδα ελέγχου. [148-195] Έχει φανεί πειραματικά ότι είναι πολύ πιθανό η IL-10 να μειώνει τα επίπεδα του TNF και του iNOs σε σπηπτικούς επίμυες που υποβάλλονται σε λαπαροτομή και λαπαροσκόπηση[196].

IL-12

Η IL-12 εκκρίνεται από τα περιφερικά λεμφοκύτταρα μετά από διέγερση. Παράγεται κυρίως από τα Β κύτταρα και σε μικρότερο βαθμό από τα Τ κύτταρα. Οι πιο ισχυροί ανοσορρυθμιστές της είναι τα βακτήρια και τα προϊόντα τους καθώς και τα παράσιτα [197].

E-Cadherin

Αυξημένα επίπεδα του μορίου προσκόλλησης των κυττάρων E-cadherin έχουν συσχετιστεί με την παρουσία ιστικού τραύματος και φλεγμονής. Η συγκέντρωση της E-cadherin 24 ώρες μετεγχειρητικά και η αθροιστική απάντησή της είναι σημαντικά υψηλότερες μετά από ανοικτό

χειρουργείο εν αντιθέσει με την λαπαροσκοπική τεχνική όπου παρουσιάζουν σημαντική μείωση [198].

IL-18

Η IL-18 είναι μια κυτοκίνη μέλος της οικογενείας των IL-1 (superfamily). Σύμφωνα με τους Gracie JA et al. εκφράζεται στην χρόνια φλεγμονή, σε αυτοάνοσα νοσήματα, σε καρκίνους αλλά και σε λοιμώξεις από βακτήρια, ιούς, μύκητες και παράσιτα. Είναι γνωστό ότι επάγει την έκφραση της IFN-γ και ότι η γονιδιακή της έκφραση ρυθμίζεται από τον NF-κB σε μακροφάγα, ουδετερόφιλα, NK κύτταρα, ενδοθηλιοκύτταρα, δενδριτικά κύτταρα (DC), κύτταρα Kupffer, κερατινοκύτταρα, οστεοβλάστες, επιθηλιακά κύτταρα του γαστρεντερικού συστήματος και άλλα πολλά. Τα ερεθίσματα που προάγουν στην ενδογενή παραγωγή της IL-18 δεν είναι ξεκάθαρα αλλά περιλαμβάνουν με βεβαιότητα την LPS και τον FasL. Στην ενεργοποίηση της IL-18 εμπλέκεται η κασπάση-1 καθώς σε ζωικά πρότυπα με ανεπάρκεια της κασπάσης-1 στα οποία χορηγήθηκε LPS δεν υπήρξε έκφραση της IL-18 και IFN-γ.

Στον άνθρωπο η χορήγηση αναστολέων της κασπάσης-1 επίσης αποτρέπει την επαγωγή της IL-18 καθώς και η έκφραση της IL-4 επίσης καταστέλλει την παραγωγή της. Η IL-18 συνεργεί στην άμυνα του οργανισμού κατά βακτηρίων, μυκήτων και πρωτόζωων δια της IFN-γ με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή νιτρικού οξειδίου (NO). Ακόμη έχει βρεθεί ότι συντελεί στην καταπολέμηση ιογενών λοιμώξεων δια της επαγωγής των T κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων. Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι η

IL-18 είναι μια πρόσφατη ανακάλυψη, εμπλέκεται στην απάντηση του ανοσοποιητικού σε εξωγενείς αλλά και ενδογενείς παράγοντες και οι μέχρι τώρα ενδείξεις είναι ενθαρρυντικές στην προσπάθεια ερευνητών να ξεκαθαρίσουν το ρόλο της αλλά και να ανακαλύψουν πολλές κλινικές εφαρμογές στην φλεγμονή. [234]

MCP-1

Σύμφωνα με τους Satish L. D. et al οι χημειοκίνες όπως έχει αναφερθεί και από άλλους είναι χημειοτακτικές κυτοκίνες υποδιαϊρούμενες σε 4 οικογένειες με βάση τον αριθμό και το διάστημα του διατηρούμενου κυστεϊνικού κατάλοιπου στο αμινοτελικό άκρο της πρωτεΐνης. Διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην χημειοταξία των μονοκυττάρων, ουδετερόφιλων και λεμφοκυττάρων. Το MCP-1/CCL2 αποτελεί το κλειδί στην χημειοταξία των μονοκυττάρων/μακροφάγων. Η μετανάστευση μονοκυττάρων από την κυκλοφορία του αίματος δια του ενδοθηλίου στους ιστούς είναι προαπαιτούμενο για την εποπτεία για την λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Η χημειοταξία επιτυγχάνεται δια της ενεργοποίησης της G-protein-coupled υποδοχέων (GPCRs), που περιλαμβάνει τα μόρια προσκόλλησης και τις γλυκοζαμινογλυκάνες (GAGs).

Η χημειοκίνη MCP-1/CCL2 είναι μέλος της C-C οικογένειας χημειοκινών και είναι η πρώτη C-C χημειοκίνη που ανακαλύφθηκε. Η ανθρώπιος MCP-1 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17 (chr.17, q11.2).

Αποτελείται από 76 αμινοξέα και είναι μεγέθους 13 kDa. Η MCP-1 παράγεται από ενδοθηλιοκύτταρα, ινοβλάστες και επιθηλιοκύτταρα μεταξύ άλλων. Η κύρια πηγή της MCP-1 είναι τα μονοκύτταρα/μακροφάγα. Οι υποδοχείς της MCP-1 είναι οι CCR2 υποδοχείς CCR2A σε μονοπύρηνα κύτταρα και λείο μυϊκό ιστό αγγείων και οι CCR2B σε μονοκύτταρα και ενεργοποιημένα NK κύτταρα. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι οι CCR2 έχουν διττό ρόλο καθώς έχουν προφλεγμονώδη αλλά και αντιφλεγμονώδη δράση. Ένα μεγάλο κλάσμα των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων διεισδύουν στους ιστούς του οργανισμού και διαφοροποιούνται σε μακροφάγα. Στον αντίποδα τα πρώιμα δενδριτικά κύτταρα των ιστών μπορούν να διαφύγουν μέσω της λέμφου στους λεμφαδένες όπου και ωριμάζουν και παρουσιάζουν αντιγόνα στα T λεμφοκύτταρα και αποπίπτουν. Έτσι ένα μέρος των μονοκυττάρων αποβάλλεται ως συνέπεια της εποπτείας του ανοσοποιητικού. Όπως έχει προαναφερθεί η MCP-1 επιστρατεύει τα μονοκύτταρα σε εστίες φλεγμονής. Επιπροσθέτως στην επιστράτευση των μονοκυττάρων και στην ωρίμανση τους σε μακροφάγα συντελεί η προσταγλανδίνη E2 αλλά και ο RANTES.

Έχει αποδειχθεί ότι άτομα που φέρουν συγκεκριμένους πολυμορφισμούς της MCP-1 και συγκεκριμένα οι γενότυποι AG και GG έχουν 2.3 με 5.4 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να προσβληθούν από το Βάκιλο του Koch εν σχέση με τους ομόζυγους AA. Άτομα που φέρουν τη CCL2 με γενότυπο GG παράγουν υψηλότερες συγκεντρώσεις CCL2 η οποία με τη σειρά της αναστέλλει την παραγωγή της IL-12 p40 ως απάντηση στο βάκιλο του Koch και έτσι αυξάνεται η πιθανότητα να προχωρήσει η νόσος σε [90]

ενεργό πνευμονική φυματίωση. Ακόμη έχει αποδειχθεί ενήλικες ομοζυγοτικοί ως προς το CCL2 -2578G αλληλόμορφο γονίδιο παρουσιάζουν 50% μικρότερη πιθανότητα να προσβληθούν με τον HIV-1. Στον αντίποδα στην περίπτωση που προσβάλλεται ένας ασθενής με την προαναφερθέντα γενότυπο του CCL2 παρουσιάζουν επιτάχυνση της νόσου αλλά και αυξημένη επίπτωση άνοιας σχετιζόμενης με τη λοίμωξη από HIV.

Αναμφίβολα ο ρόλος του MCP-1 στην καταπολέμηση της φλεγμονής είναι κεντρικός καθώς ήδη είναι γνωστό ότι πολλοί ανταγωνιστές του CCR2, όπως ο INCB 3284 και INCB 8689 (Incyte), ο CCX915 (Chemo Centryx) και ο MLN 1202 (Millennium) δοκιμάζονται σε πολυκεντρικές κλινικές μελέτες. Η ανακάλυψη φαρμάκων που αναστέλλουν τις δράσεις των προφλεγμονωδών κυτταροκινών χωρίς παρενέργειες μπορεί να είναι και το Άγιο Δισκοπότηρο που ψάχνουν οι ερευνητές της φλεγμονής και των λοιμώξεων. [235]

Effects	Mechanism	References
Thrombus formation	By generating tissue factor	Charo and Taubman 2004
Tuberculosis	Lower levels of IL-12 p40	Flores-Villanueva and others 2005
Immunotolerance in endometriosis	Apoptosis of T-lymphocytes	Salem and others 2006
Recurrent miscarriage	IL-1 β -induced MCP-1	Huang and others 2006
Viral clearance from CNS	Increased infiltration of T lymphocytes	Carmen and others 2006
Multiple sclerosis	Correlation between CCL2 and axonal damage CCL2 and IP-10 in hypertrophic astrocytes	Tanuma and others 2006
Secondary progressive multiple sclerosis		
Nociception (perception of pain)	CCL2-mediated depolarization of neurons	Sun and others 2006
HIV-neurological complications	Tat-mediated upregulation of COX-2, MCP-1, IL-1 β , TNF- α , and iNOS, and activation of microglial cells	Flora and others 2005
Oxygen-induced injury (retinopathy)	Marked increase in CCL2 in microglia/macrophages	Davies and others 2006
HIV-associated neurocognitive impairment	Correlation between plasma MCP-1 and tissue status TNF- α and anisotropy measurements	Ragin and others 2006
Tumor neovascularity	CCL2 influence by affecting macrophage infiltration	Wang and others 2006
Brain development and heterologous desensitization, influence of neuronally active pharmacological agents such as opioids and cannabinoids	Chemokine-based intracellular communication interaction with neurotransmitter systems	Adler and others 2006
Nephropathy	p38 MAPK phosphorylation	Granata and others 2006
Inflammatory bowel disease	CCL2-mediated differentiation of intestinal macrophages	Spoetl and others 2006
Allergic asthma	IL-4 and IL-13-induced release of CCL2 in bronchial epithelium	Ip and others 2006
Rheumatoid arthritis	Increased CCL2 before onset	Rantapaa-Dahlqvist and others 2007
Insulin resistance	Increased MCP-1, TNF- α , and IL-6	Kamei and others 2006
Ischemia-related neuronal death	Astrocytes expressing CCL2, MIP1- α , and cells expressing its receptors	Sakurai-Yamashita and others 2006
Exitotoxic (NMDA) neuronal injury	CCL2 production by astrocytes	Katayama and others 2002

Πιν. 3 Η συσχέτιση της CCL2 με διάφορα νοσήματα

Κορτιζόλη

Τα γλυκοκορτικοειδή είναι πλειότροπες ορμόνες που επηρεάζουν τον μεταβολισμό, την καρδιαγγειακή λειτουργία, τη συμπεριφορά και τη φλεγμονώδη/άνοση αντίδραση. Η κορτιζόλη, το φυσικό γλυκοκορτικοειδές του ανθρώπου, εκκρίνεται από τα επινεφρίδια που διεγείρονται από την φλοιοτρόπο ορμόνη (ACTH) σε τακτικούς ρυθμούς κατά τη διάρκεια του εικοσιτετραώρου και σε συνθήκες στρες [199].

Έχει διαπιστωθεί ότι η λαπαροσκοπική τεχνική διεγείρει λιγότερο τον οργανισμό εν σχέση με την λαπαροτομία, η οποία έχει μεγάλη επίπτωση σε κατεχολαμίνες και ACTH, μάλλον λόγω του πιο εκτεταμένου τραύματος του ανοικτού χειρουργείου [200]. Ακόμη έχει βρεθεί ότι η λαπαροσκοπική προκαλεί μικρότερη απάντηση στρες και μικρότερη επίπτωση στο μεταβολισμό εν σχέση με το ανοικτό χειρουργείο. Αυτά τα πλεονεκτήματα είναι ευεργετικά στην αποκατάσταση των ορμονών στρες [201-205]. Η λαπαροσκοπική έχει σαν πλεονεκτήματα, έναντι της ανοικτής επέμβασης, την μικρότερη δυσφορία των ασθενών και μειωμένη ενδοκρινική απάντηση στρες [206]. Τα αποτελέσματα της λαπαροσκοπικής προσέγγισης δείχνουν σημαντικά μειωμένη νευροενδοκρινική απάντηση στο χειρουργικό τραύμα. Η λαπαροσκοπική μπορεί να είναι η βέλτιστη προσέγγιση σε ασθενείς που είναι σε κρίσιμη κατάσταση [207].

Προκαλσιτονίνη

Η προκαλσιτονίνη (PCT) έχει προταθεί ως δείκτης φλεγμονής σε ασθενείς που βρίσκονται σε κρίσιμη κατάσταση. Τα επίπεδά της σχετίζονται με την σοβαρότητα της λοίμωξης. Η PCT είναι ένα πεπτίδιο 116 αμινοξέων με αλληλουχία όμοια της προορμόνης της καλσιτονίνης αλλά η PCT δεν έχει κάποια γνωστή ορμονική λειτουργία. Υπό φυσιολογικές καταστάσεις ανευρίσκεται μόνο στα C κύτταρα του θυρεοειδούς αδένος [208-210] και θεωρείται αξιόπιστος δείκτης φλεγμονής.

C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)

Η CRP είναι μια πρωτεΐνη οξείας φάσης και τα επίπεδα της ευθέως αντικατοπτρίζουν την ύπαρξη ή μη φλεγμονής. Παράγεται από το ήπαρ υπό την επίδραση της IL-1 και της IL-6. Φθάνει στις μέγιστες τιμές της περίπου 50 ώρες μετά το ερέθισμα και τα επίπεδα της μειώνονται γρήγορα με την απομάκρυνσή του [211].

Σήψη και οξειδωτικό στρες

Η υπεροξειδωση λιπιδίων από ελεύθερες ρίζες σχετίζεται με τη μειωμένη αντιοξειδωτική κατάσταση του πλάσματος πράγμα που συμβαίνει σε πολλές χειρουργικές επεμβάσεις. Σε συγκριτική μελέτη λαπαροσκοπικής και λαπαροτομής φάνηκε ότι και οι δυο επεμβάσεις προκάλεσαν την αύξηση του οξειδωτικού στρες του οργανισμού και μείωσαν την αντιοξειδωτική του

δραστηριότητα. Οι διαφορές των τιμών ήταν σημαντικές και έδειξαν ότι η οξειδωτική απάντηση του οργανισμού ήταν μεγαλύτερη στην λαπαροτομική μέθοδο [212].

Παράμετροι οι οποίες είναι μετρήσιμες και σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες του οργανισμού, αλλά και με την αντιοξειδωτική του ικανότητα είναι η μαλονδιαλδεϋδη (προϊόν υπεροξείδωσης των λιπιδίων) [213-215], η ολική οξειδωτική ικανότητα του ορού, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού, η δεσμουτάση του υπεροξειδίου CuZn (SOD, αντιοξειδωτικό ένζυμο) [216], η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (αντιοξειδωτικό ένζυμο), η σερουλοπλασμίνη [217,218] (πρωτεΐνη η οποία μεταφέρει το 80% του χαλκού του πλάσματος ο οποίος αποτελεί απαραίτητο συστατικό διαφόρων ενζυμικών συστημάτων, περιλαμβανομένης της δυσμουτάσης των υπεροξειδίων, που εξουδετερώνει τις τοξικές ελεύθερες ρίζες) [219], μυελοπεροξειδάση(ένζυμο το οποίο βρίσκεται στα κοκκία των ουδετεροφίλων και καταλύει την οξείδωση μιας πληθώρας ουσιών μέσω του υπεροξειδίου το υδρογόνου) [220] , καθώς και το cAMP και το cGMP.

Διαταραχές του πηκτικού μηχανισμού

Μεγάλη ελάττωση των αιμοπεταλίων (< 50000 κκχ) υποδηλώνει διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, οπότε ανευρίσκονται και τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά όπως η παράταση του χρόνου προθρομβίνης και της μερικής θρομβοπλαστίνης, ελάττωση του ινοδωγόνου, αύξηση των προϊόντων διάσπασης ινοδωγόνου και οι D-dimers [221].

Άλλος ένας παράγοντας του πηκτικού μηχανισμού ο οποίος είναι δυνατό να επηρεαστεί σε σηπτικούς ασθενείς είναι η πρωτεΐνη C η οποία ασκεί την αντιπηκτική της δράση εξουδετερώνοντας πρωτεολυτικά τους παράγοντες 5α και 8α [222]. Η σήψη, συχνά σχετίζεται με την διάχυτη ενδαγγειακή πήξη και την κατανάλωση ανταγωνιστών της πήξης όπως η αντιθρομβίνη III (ATIII) [223]. Σε συγκρίσεις που έγιναν ανάμεσα σε λαπαροσκοπικές και λαπαροτομικές επεμβάσεις έδειξαν ότι μειώνοντας την μετεγχειρητική υπερπηκτικότητα το λαπαροσκοπικό χειρουργείο μπορεί να μειώσει το ρίσκο δημιουργίας μετεγχειρητικής φλεβοθρόμβωσης [224,225]

Σήψη και απόπτωση

Παρότι η σήψη έχει μελετηθεί διεξοδικά, από την διεθνή και ελληνική βιβλιογραφία προκύπτουν σημαντικά κενά γνώσης. Η σύγκριση της λαπαροσκόπησης και λαπαροτομίας παρουσία ενδοκοιλιακής σήψης μπορεί να αποτελέσει αντικείμενο μελέτης το οποίο θα οδηγήσει στην πληρέστερη κατανόηση της παθοφυσιολογίας της σήψης καθώς και της αλληλεπίδρασής της με επεμβατικούς θεραπευτικούς χειρισμούς. Ακόμη ένα σημαντικό πρόβλημα στην κλινική πράξη είναι η έλλειψη αξιόπιστων δεικτών προσδόκιμου επιβίωσης ή και δείκτες οι οποίοι θα βοηθούν τον χειρουργό να αποφασίζει την δυνατότητα ή μη εκτέλεσης λαπαροσκόπησης ή λαπαροτομίας. Η συγκεκριμένη ερευνητική πρόταση βασίζεται σε αυτά τα κενά γνώσης, στην πολυπλοκότητα του προβλήματος της ενδοκοιλιακής σήψης καθώς και στην σημαντική θνησιμότητα και νοσηρότητα που παρουσιάζεται στους πάσχοντες.

Κασπάση-3

Η απόπτωση κυρίως βασίζεται στη μιτοχονδριακή οδό και την ενεργοποίηση της κασπάσης-3. Αναστολείς των κασπασών, συμπεριλαμβανομένου του caspase-3 inhibitor M867, παρουσιάζουν την ιδιότητα να αναστέλλουν την εκδήλωση απόπτωσης *in vitro* και *in vivo*. Η αποτροπή της κατάτμησης(fragmentation) του DNA απαιτεί υψηλά επίπεδα

αναστολής της κασπάσης-3 εν σχέση με αυτά που χρειάζονται για να ανασταλούν άλλα αποπτωτικά φαινόμενα, όπως η πρωτεόλυση της σπεκτρίνης και η εξωτερίκευση της φωσφατιδυλσερίνης. Τα στοιχεία αυτά συνηγορούν υπέρ της άμεσης επίδρασης της αναστολής κασπασών με κάποιες εκδηλώσεις της απόπτωσης αλλά και ότι με την μερική αναστολή της κασπάσης-3, τα αποπτωτικά φαινόμενα εκτυλίσσονται κανονικά αφού αρκεί ελάχιστη ποσότητα κασπάσης-3 ώστε να δώσει το έναυσμα για την καταστροφή γενετικού υλικού, πιθανώς λόγω της απόδρασης καταλυτικής ποσότητας ενεργοποιημένης από την κασπάση δεοξυριβονουκλεάσης (caspase-activated DNase). Τα παραπάνω στοιχεία δείχνουν ότι η ανεξάρτητη από τις κασπάσες απόπτωση έχει υπερεκτιμηθεί, καθώς το γεγονός ότι κάποια αποπτωτικά γεγονότα αναστέλλονται δεν αντικατοπτρίζει την ανάγκη για υψηλού βαθμού αναστολή της κασπάσης-3 ώστε να αποφευχθεί η κατάτμηση του DNA. Οι περαιτέρω ανάγκες θεραπευτικών εφαρμογών κάνουν επιτακτική την ανάγκη για την ολική και σε βάθος χρόνου αναστολή της κασπάσης-3 [226].

Bcl-2

Άλλη μια σημαντική παράμετρος στην απόπτωση είναι η αντιαποπτωτική πρωτεΐνη Bcl-2, καθώς έχει διαπιστωθεί ότι πειραματόζωα που παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση Bcl-2 έχουν σαφώς αυξημένα ποσοστά επιβίωσης μετά από σήψη. Η υπερέκκριση της Bcl-2 σχετίζεται με την

μειωμένη απόπτωση καθώς και με μειωμένα επίπεδα της ενεργού κασπάσης-3. Μειώνοντας την απόπτωση μέσω της αυξημένης έκφρασης της Bcl-2 βελτιώνεται η επιβίωση σε σηπτικά ζωικά πρότυπα [227].

Bax- Bak

Στην οικογένεια των πρωτεϊνών Bcl-2 ανήκει και η πρωτεΐνη Bax, η οποία, σε αντίθεση με την Bcl-2, προωθεί τον κυτταρικό θάνατο μέσω της απόπτωσης [228]. Αυτό, το επιτυγχάνει με μια πλειάδα ερεθισμάτων, συμπεριλαμβανομένης και της απομάκρυνσης διαφόρων αυξητικών παραγόντων [229]. Έχει τεθεί η υπόθεση ότι το κλάσμα Bcl-2/Bax αντικατοπτρίζει τη σχετική ροπή του εκάστοτε κυττάρου για ανταπόκριση προς τα αποπτωτικά ερεθίσματα που δέχεται [230]. Άλλο ένα μέλος της οικογένειας της Bcl-2 είναι και η πρωτεΐνη Bak, η οποία προωθεί τον κυτταρικό θάνατο μέσω της απόπτωσης [231].

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΣΚΕΛΟΥΣ

Επιλογή Βακτηρίου για την πρόκληση περιτονίτιδας μετά από Πειραματισμό με στελέχη E. coli και Pseudomonas aeruginosa σε διαφορετικά επίπεδα μονάδων σχηματισμού αποικιών CFU

Για την μελέτη της επίδρασης της λαπαροσκόπησης και της λαπαροτομίας σε περιτονίτιδα διενεργήθηκαν πιλοτικά πειράματα όπου προκλήθηκε περιτονίτιδα σε επίμυες Wistar μέσου βάρους 280gr με σκοπό την μελέτη της νοσηρότητας και θνητότητας των διαφόρων αναπτύξεων CFU των βακτηρίων E. coli και Pseudomonas aeruginosa. Το βακτήριο E. coli ενοφθαλμίστηκαν στο περιτόναϊκή κοιλότητα 12 επίμυων των 3 ομάδων σε αναπτύξεις $1\text{ml} * 10^6$ CFU, $1\text{ml} * 10^7$ CFU και $1\text{ml} * 10^8$ CFU . Τα ζωικά πρότυπα της πρώτης ομάδας επιβίωσαν και ανέρρωσαν από μια υποκλινική περιτονίτιδα, ενώ της δεύτερης ομάδας έδειξαν κλινικά σημεία νόσου όπως υπερπυρεξία, ταχύπνοια, το τριχοκινητικό αντανάκλαστικό και άρνηση στη τροφή και νερό για διάστημα περίπου 48 ωρών. Οι 3 εκ των τεσσάρων επίμυων ανάρρωσαν ενώ το τέταρτο απεβίωσε με την πάροδο 78 ωρών. Τα ζωικά πρότυπα της ομάδος 3 εμφάνισαν 100% θνητότητα εντός 12 ώρων, αλλά παρουσιάστηκαν ακραίες τιμές χρόνου μέχρι το θάνατο αυτών των επίμυων. Από την βιβλιογραφία προκύπτει η σύνδεση της λοίμωξης με E. coli με τον μυοκαρδιακό κατασταλτικό παράγοντα (MDF) και την οξεία καρδιακή ανεπάρκεια που εμφανίζει ο προσβληθείς οργανισμός. Εξαιτίας των απρόβλεπτων αποτελεσμάτων στην επιβίωση των ζωικών προτύπων όταν

ενοφθαλμίστηκαν ενδοπεριτοναϊκά με διάλυμα *E. coli* αποφασίστηκε να επαναληφθούν τα πειράματα χρησιμοποιώντας *Pseudomonas aeruginosa* σε ανάπτυξη $1\text{ml} * 10^6$ CFU, $1\text{ml} * 10^7$ CFU και $1\text{ml} * 10^8$ CFU. Το πιλοτικό πείραμα με τον ενοφθαλμισμό *Pseudomonas aeruginosa* σε ανάπτυξη $1\text{ml} * 10^8$ CFU κρίθηκε ως κατάλληλο για την διενέργεια της συνέχειας του πειράματος. Επιλέχθηκε η *P. Aeruginosa* καθώς σε ανάπτυξη $1\text{ml} * 10^8$ CFU όλα τα ζωικά πρότυπα νόσησαν, και παρουσίασαν θνητότητα 100% με μέσο χρόνο επιβίωσης 9,5 ώρες μετά τον ενοφθαλμισμό του βακτηρίου, χωρίς να παρουσιάζουν ακραίες τιμές στο χρόνο επιβίωσης.

Pseudomonas aeruginosa

Η Ψευδομονάς η πυοκυανική ή αεριογόνος (*Pseudomonas aeruginosa*) είναι είδος βακτηρίου μέλος του γένους *Pseudomonas*. Αποτελεί την συχνότερη αιτία μόλυνσης από ψευδομονάδα στον άνθρωπο. Ακόμη, ευθύνεται επιπλέον για ασθένειες σε θηλαστικά. Ανευρίσκεται στο έδαφος και στο νερό. Μέχρι και 10% των ανθρώπων την φέρει ως μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου. Έχει ελάχιστες ενεργειακές ανάγκες και δύναται να επιβιώσει υπό δυσμενείς συνθήκες. Επιπλέον αντιστέκεται στην φαγοκυττάρωση, ενώ μπορεί να καταστεί ανθεκτικό στα περισσότερα αντιβιοτικά.

Ταξινόμηση

Βασίλειο	Πρωτόζωα
Συνομοταξία Πρωτεοβακτηρίων	Γάμμα-Πρωτεοβακτηρίων
Τάξη	Pseudomonadales
Οικογένεια	Pseudomonadaceae
Γένος	Pseudomonas
Είδος	Pseudomonas aeruginosa

Πιν.4

<http://emedicine.medscape.com/article/226748-overview>

Περιγραφή

Η αεριογόνος ψευδομονάδα (*Pseudomonas aeruginosa*) είναι ένα Gram-αρνητικό και κατά κανόνα κινητό αερόβιο βακτήριο. Κατά τους Kenneth Todar et al δε σχηματίζει εφησυχάζουσες μορφές και δεν παράγει σπόρια (μη σπορογόνο). Έχει ραβδοειδές σχήμα και σύμφωνα με τους Μαυρίδου Α. et al το μήκος της ράβδου του κυμαίνεται από 1 - 5 μm και το πλάτος από 0,5 - 1,0 μm . Εξωτερικά του κυττάρου σε μερικά στελέχη υπάρχει πολυσακχαρικό έλυτρο που το προστατεύει από την φαγοκυττάρωση και από επικίνδυνες για αυτό ουσίες. Τα κύτταρα του βακτηριδίου *P. aeruginosa* διατάσσονται μεμονωμένα, σε ζεύγη και σε μικρές αλυσίδες.

Καλλιέργεια

Η αεριογόνος ψευδομονάδα αναπτύσσεται μόνο σε αερόβιες συνθήκες, και σε κοινά θρεπτικά υλικά. Ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης είναι οι 37 $^{\circ}\text{C}$ μπορεί όμως να αναπτυχθεί και σε 4 - 43 $^{\circ}\text{C}$. Το γεγονός ότι αναπτύσσεται και στους 42 $^{\circ}\text{C}$ την διαφοροποιεί από τις υπόλοιπες ψευδομονάδες. Σημαντικό χαρακτηριστικό των αποικιών της *P. aeruginosa* είναι η ιδιαίτερη ευχάριστη οσμή της. Σε ορισμένες καλλιέργειες παρατηρούνται βλεννώδεις αποικίες, λόγω του ελύτρου της. Άχρωμες αποικίες εντοπίζονται στο MacConkey άγαρ, γιατί δεν ζυμώνει την λακτόζη.

Ιδιότητες

Όλα τα στελέχη της *P.aeruginosa* αναπτύσσονται στους 42 βαθμούς Κελσίου. Επιπλέον παράγουν οξειδάση και καταλάση, αλλά όχι υδρόθειο. Διασπούν οξειδωτικώς την γλυκόζη, χωρίς την παραγωγή αερίου, όμως δεν την ζυμώνουν. Αντίθετα δεν διασπούν την μαλτόζη και την λακτόζη. Προκαλούν οξειδωτική διάσπαση του γλυκονικού καλίου, παράγοντας 2-κετογλυκονικό κάλιο. Στα περισσότερα στελέχη συναντάμε κινητικότητα (90% των στελεχών) και την δυνατότητα υδρόλυσης της αργίνης (96-98% των στελεχών). Ποσοστό μεγαλύτερο του 50% των στελεχών της παράγουν την χρωστική πράσινη πυοκυανίνη. Σημαντικό είναι ότι από όλα τα είδη της ψευδομονάδας μόνο η *P. aeruginosa* έχει αυτήν την ιδιότητα. Η πυοκυανίνη χρωματίζει τα εκκρίματα των λοιμώξεων που οφείλονται στην συγκεκριμένη ψευδομονάδα, για αυτό και η Ψευδομονάδα η αεριογόνος ονομάζεται και πυοκυανική. Στελέχη που παράγουν πυοκυανίνη χαρακτηρίζονται εύκολα ως *P. aeruginosa* και δεν χρειάζονται άλλες δοκιμασίες για την τυποποίηση του μικροβίου. Οι ψευδομονάδες παράγουν σπανιότερα και άλλες χρωστικές, όπως τις πυοερυθρίνη, πυομελανίνη και φθοριοσεΐνη. Η φθοριοσεΐνη είναι πράσινη φθορίζουσα χρωστική και οι καλλιέργειες του μικροβίου που την παράγουν φθορίζουν, όταν προσπέσει σε αυτά υπεριώδης ακτινοβολία. Η πυοερυθρίνη είναι σκούρα ερυθρά χρωστική και η πυομελανίνη έχει χρώμα καστανό-μαυρο .

Παθογένεια

Η αεριογόνος ψευδομονάδα δεν προκαλεί συνήθως ασθένειες σε υγιείς ανθρώπους. Είναι ένας ευκαιριακά παθογόνος μικροοργανισμός. Ονομάζεται ευκαιριακός, επειδή η συμπεριφορά του εξαρτάται από τις συνθήκες. Μπορεί όμως να προκαλέσει θανατηφόρες λοιμώξεις σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, σε ασθενείς με σοβαρά εγκαύματα, με σοβαρές δερματικές βλάβες και σε ασθενείς που πάσχουν από κυστική ίνωση. Έχει ελάχιστες διατροφικές απαιτήσεις και μπορεί να ανεχθεί μια μεγάλη ποικιλία περιβαλλοντικών συνθηκών.

Η *P. aeruginosa* προκαλεί ενδονοσοκομειακές λοιμώξεις όπως ουρολοιμώξεις, μηνιγγίτιδα, λοιμώξεις από καθετήρες, σηψαιμία, πνευμονία, διαπυήσεις τραυμάτων κ.ά. Προκαλεί όμως και εξωνοσοκομειακές λοιμώξεις όπως ωτίτιδα, λοιμώξεις τραυμάτων, επιπεφυκίτιδα κ.α. Σύμφωνα με το CDC είναι υπεύθυνη για το 16% της νοσοκομειακής πνευμονίας, το 12% των ενδονοσοκομειακών λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος, το 8% λοιμώξεων χειρουργικών τραυμάτων και το 10% λοιμώξεων του αίματος. Εκτός από τους ασθενείς με κυστική ίνωση αναπνευστικές λοιμώξεις προκαλούνται και σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς καθώς και σε χρόνιους πνευμονοπαθείς όπου προκαλεί κυρίως πνευμονία. Η αεριογόνος ψευδομονάδα προκαλεί επίσης βακτηριαιμία (η παρουσία μικροοργανισμών στο αίμα που ανιχνεύεται με την καλλιέργεια του αίματος) μεταδιδόμενη μέσω ιατροτεχνολογικών προϊόντων στα νοσοκομεία και στους οίκους

ευγηρίας. Τα συμπτώματα εξαρτώνται από το σημείο της λοίμωξης, με το ποσοστό της θνησιμότητας να παραμένει μεγαλύτερο από το 10%. Στο ίδιο ποσοστό οφείλεται και για τις περιπτώσεις ενδοκαρδίτιδας. Έχουν περιγραφεί 200 περιπτώσεις ενδοκαρδίτιδας από *P. aeruginosa* σύμφωνα με την Κανσουζίδου-Κανακούδη Α. et al 2007. Η ανθεκτικότητά της στα περισσότερα από τα συνηθισμένα αντιβιοτικά, είναι ένα γεγονός που καθιστά την λοίμωξη από *P. aeruginosa*, αρκετά επικίνδυνη ειδικά σε άτομα με ήδη επιβαρυνόμενο ανοσοποιητικό. Ο σχηματισμός του βιοφίλμ σχετίζεται με την αντοχή του στελέχους στα αντιβιοτικά και σε χρόνιες λοιμώξεις. Κατά τους Piraino B. et al 1987 αλλά και Patrick G. Lan et al 2014 η περιτονίτιδα στον άνθρωπο από Ψευδομονάδα είναι συχνή επιπλοκή της περιτοναϊκής κάθαρσης καθώς ο αποικισμός του περιτοναϊκού καθετήρα δεν είναι σπάνιος με επακόλουθο την περιτονίτιδα από στέλεχος *P. aeruginosa* και την ανάγκη χορήγησης αντιβιοτικών αλλά και αλλαγή του καθετήρα.

ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΕΡΙΤΟΝΙΤΙΔΑΣ ΜΕ ΧΕΙΡΙΣΜΟΥΣ ΛΑΠΑΡΟΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΗΣΗΣ

Η πειραματική μελέτη πριν την πραγματοποίησή της εξασφάλισε «Άδεια Πειραματισμού» του Επιστημονικού Υπευθύνου από τη Νομαρχία Αθηνών, σύμφωνα με το προβλεπόμενο Προεδρικό Διάταγμα, 160/91 με το οποίο εναρμονίσθηκε η Ελλάδα στην Κοινοτική Οδηγία 609/86.

Τα ζώα παρέμειναν σε ξεχωριστά μεταλλικά κλουβιά με ελεύθερη πρόσβαση σε νερό και στη συνήθη τροφή τους. Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος κυμάνθηκε μεταξύ 18°C και 22°C, η σχετική υγρασία σε 65% και ο κύκλος φωτός/σκότους 8πμ με 8μμ.

Ο σκοπός της μελέτης είναι να συσχετιστεί η πιθανή επίδραση των λαπαροσκοπικών χειρισμών ή της λαπαροτομίας στην προκληθείσα περιτονίτιδα. Για την εγκατάσταση περιτονίτιδας επιλέχθηκε το μοντέλο ενδοπεριτοναϊκής έγχυσης προκαθορισμένου βακτηριακού φορτίου και συγκεκριμένα 1ml*10⁸ CFU *Pseudomonas aeruginosa*. Η έγχυση έγινε υπό αναισθησία με αιθέρα, κεταμίνη και ξυλαζίνη. Η έγχυση έγινε με βελόνη τύπου Verres δια υπομφάλιας τομής Hasson. Τα ζωικά πρότυπα ήταν 29 αρσενικοί επίμυες Wistar βάρους περίπου 300 γρ.

Έγινε τυχαιοποιημένη κατανομή σε τρεις ομάδες. Η πρώτη ομάδα (Α) με εννέα άτομα ονομάστηκε ομάδα ελέγχου. Η δεύτερη ομάδα (Β) ορίστηκε ως ομάδα πνευμοπεριτοναίου (n=10), ενώ η τρίτη (Γ) n=10 ομάδα

λαπαροτομίας. Μια μικρή ποσότητα αίματος συλλέχθει από φλεβικό πλέγμα στην περιοχή του έξω κανθού με τριχοειδική πιπέττα.

Τα ζωικά πρότυπα ζυγίσθηκαν, κατεγράφη ο κορεσμός O₂ με παλμικό οξύμετρο, η καρδιακή συχνότητα κατεγράφη με ηλεκτροκαρδιογράφημα και Doppler. Ακόμη μετρήθηκε η θερμοκρασία ορθού και η αναπνευστική συχνότητα πριν γίνει η έγχυση του μικροβιακού φορτίου. Ακολούθησε παρακολούθηση για διάστημα 6 ωρών οπότε και τα ζωικά πρότυπα έδειχναν σημεία νόσου όπως λήθαργο και το τριχοκινητικό αντανακλαστικό (piloerection). Στις 6 ώρες χορηγήθηκε αναισθησία και όλες οι μετρήσεις επαναλήφθηκαν καθώς και συλλέχθη πάλι ποσότητα αίματος. Η ομάδα ελέγχου διατηρήθηκε υπό αναισθησία για 30 λεπτά οπότε και επανατοποθετήθηκε για παρακολούθηση. Η ομάδα Β υπέστη για 30 λεπτά πνευμοπεριτόναιο. Η ενδοπεριτοναϊκή πίεση διατηρήθηκε στα 5 mmHg για 30 λεπτά με ρυθμό ροής CO₂ 0,2l/min. Επιπλέον τοποθετήθηκαν δυο καθετήρες 18G ενδοπεριτοναϊκά για να προσομοιάσει το τραύμα της λαπαροσκόπησης. Με την πάροδο 30 λεπτών η περιτοναϊκή κοιλότητα κενώθηκε από το αέριο με ελαφρά μάλαξη του κοιλιακού τοιχώματος και ακολούθησε η συρραφή των τραυμάτων με ράμματα 4-0 nylon. Κατόπιν τα ζωικά πρότυπα επανατοποθετήθηκαν στις κοιτίδες τους για παρακολούθηση. Τα υπόλοιπα 10 ζωικά πρότυπα της ομάδας Γ υπέστησαν λαπαροτομή 3-4 εκατοστών και η περιτοναϊκή κοιλότητα εξετέθη στον αέρα για χρόνο 30 λεπτών. Στις ομάδες Β και Γ έγιναν πλύσεις με 30 ml φυσιολογικού ορού.



Εικ. 6 Δημιουργία πνευμοπεριτοναίου

CO₂ pneumoperitoneum (5mmHg, 0,2 l/ min)

Η θερμοκρασία ορθού καταγράφηκε την ώρα 0, 6, 7, 8, 10, 12 και σε διαστήματα 4 ωρών μετά την 12 ώρα.

Ο κορεσμός οξυγόνου, η καρδιακή και η αναπνευστική συχνότητα καταγράφηκε την ώρα 0, 6, 8. Ολικό αίμα συλλέχθηκε την ώρα 0,6,8,10 και 144.

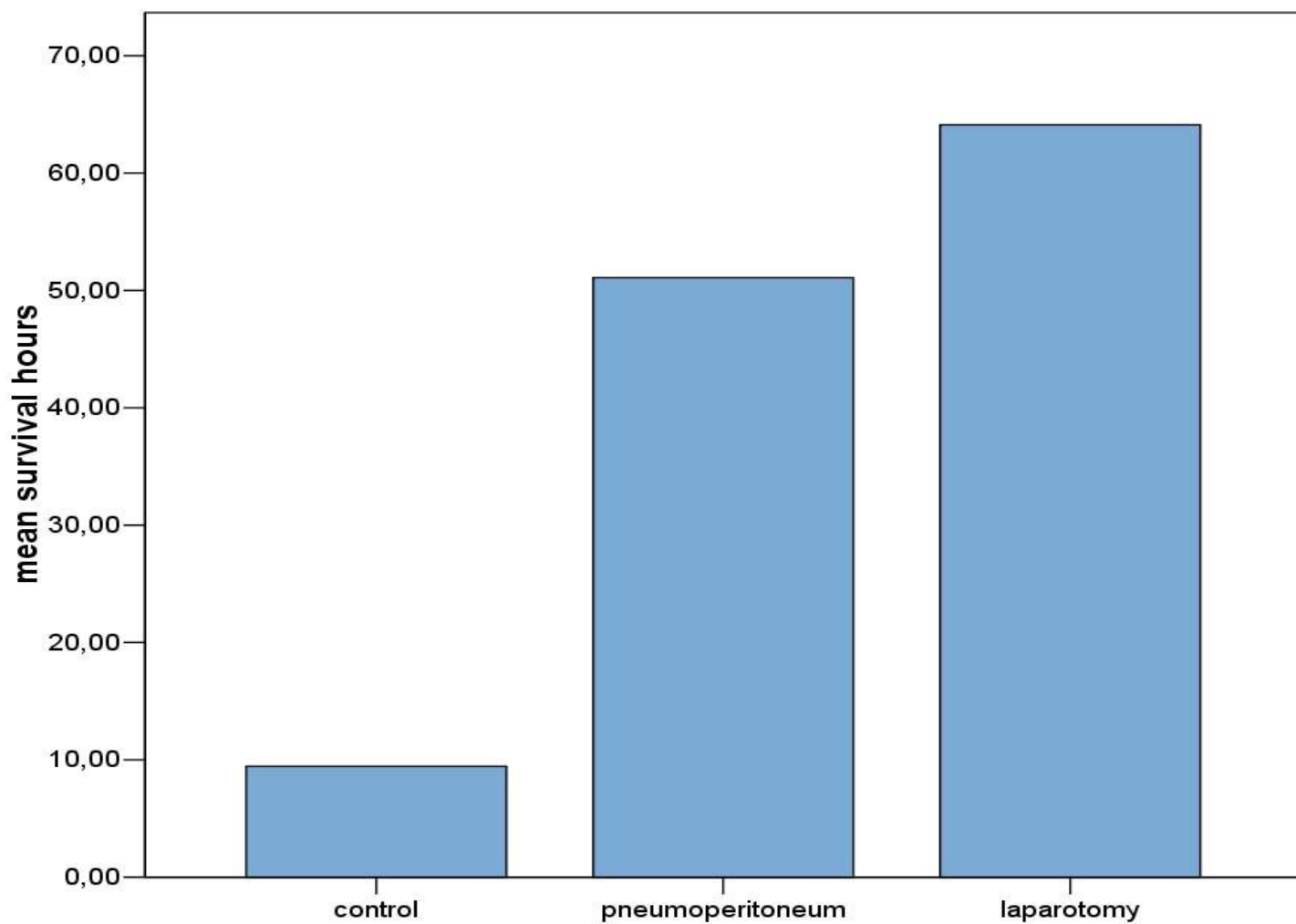
Κάθε επίμυς που απεβίωσε υπεβλήθει σε νεκροτομή. Τα ζωικά πρότυπα που επιβίωσαν θανατώθηκαν την 144^η ώρα και υπεβλήθησαν σε νεκροτομή. Κατά την νεκροτομή συλλέχθησαν ιστοτεμάχια από τη βάση των πνευμόνων, το ήπαρ και το σπλήνα. Αφετηρία της νεκροτομής ήταν η αντιστηρίδα του θωρακοκοιλιακού δέρματος, η προσπέλαση στο θώρακα για τη λήψη ιστοτεμαχίων πνευμονώς και στη συνέχεια η λαπαροτομή για τη λήψη ιστοτεμαχίων ήπατος και σπληνός. Τα ιστοτεμάχια ζυγίσθηκαν και ελήφθησαν ιστοτεμάχια βάρους 0,5γρ σε 1 ml NaCl 0,9%. Ακολούθησε η ομογενοποίηση των δειγμάτων. Ύστερα από 5 διαδοχικές διυλίσεις (100μl) χρησιμοποιήθηκαν η πρώτη, η τρίτη και πέμπτη για ποιοτικές και ποσοτικές καλλιέργειες. Οι αρνητικές καλλιέργειες απερρίφθησαν την 5η ημέρα.



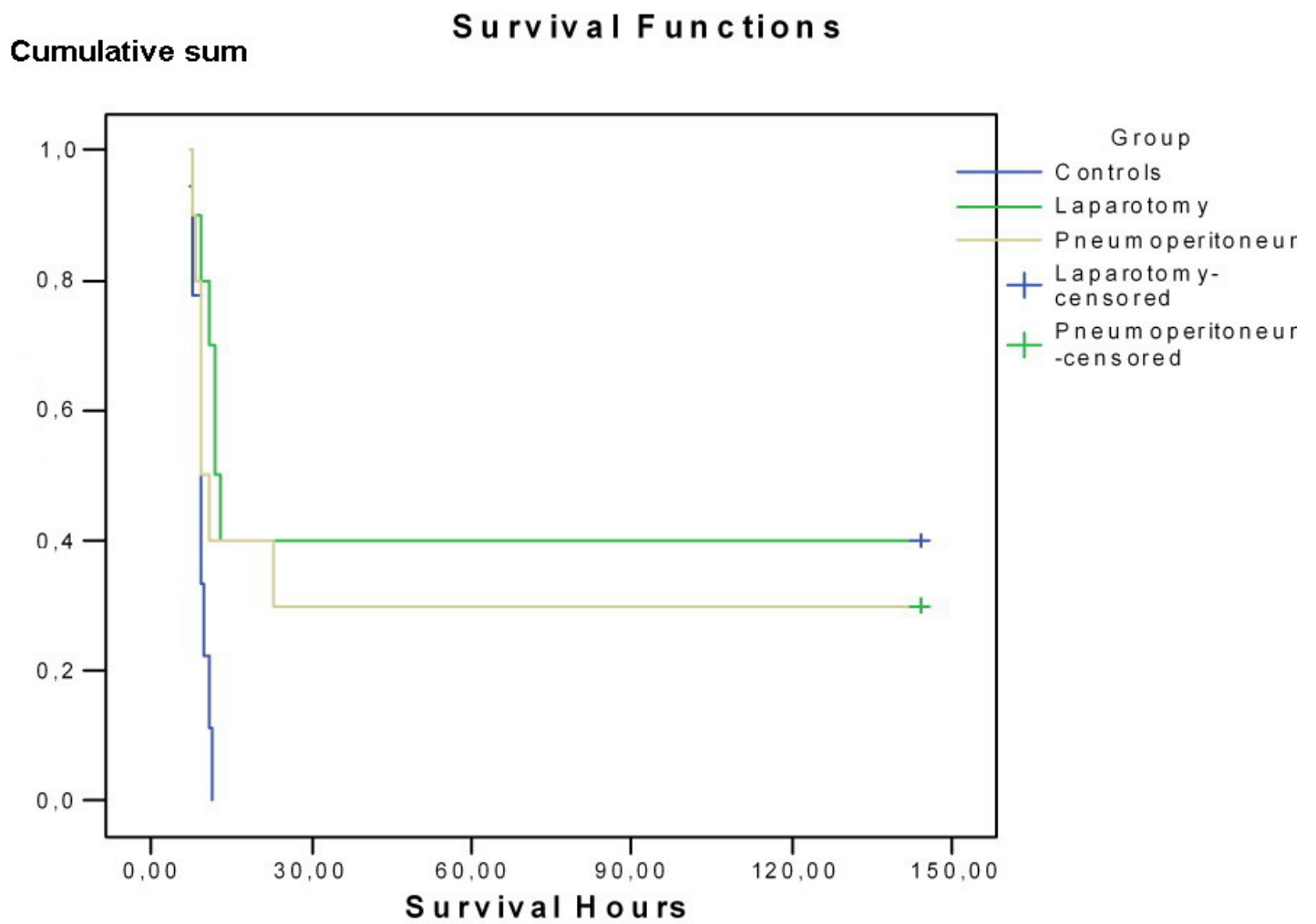
Εικ. 7 Αποικίες Ψευδομόναδος σε τριβλίο

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΛΕΤΗΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ

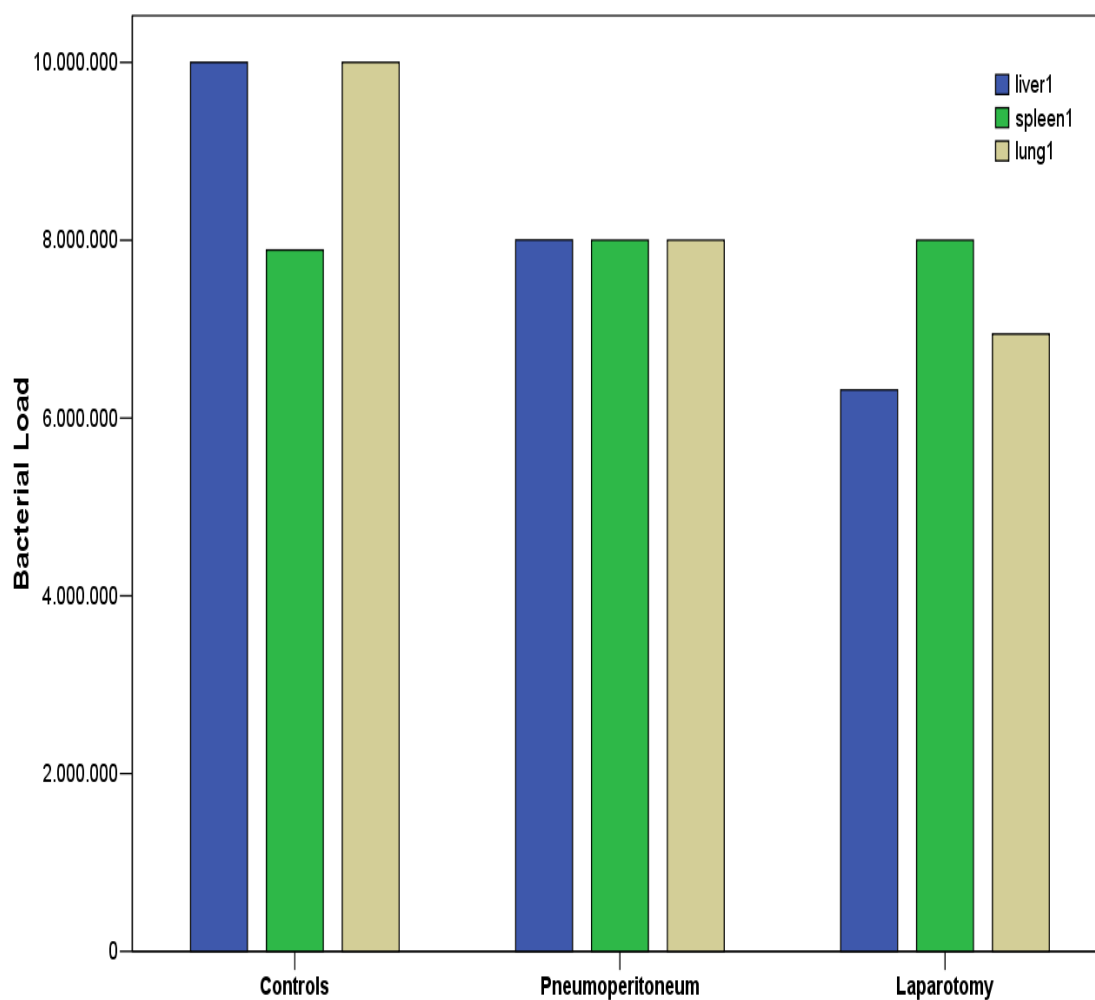
Ο μέσος χρόνος επιβίωσης (mean survival) μεταξύ των τριών ομάδων ήταν A 9.44 ± 0.45 , B 51.1 ± 19.28 και Γ 64.12 ± 20.63 ώρες. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας ελέγχου και λαπαροτομίας ($p < 0.0027$). Ακόμη παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας A-B και A-Γ στην αναπνευστική συχνότητα ($p = 0.008$), ενώ στις ομάδες A και B παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στον κορεσμό οξυγόνου την ώρα 6 και 8 ($p = 0.002$). Το μικροβιακό φορτίο δεν φάνηκε να παρουσιάζει εμφανείς διαφορές μεταξύ των καλλιεργημένων ιστοτεμαχιών των τριών ομάδων.



Γράφημα 1 Μέση επιβίωση των 3 ομάδων.

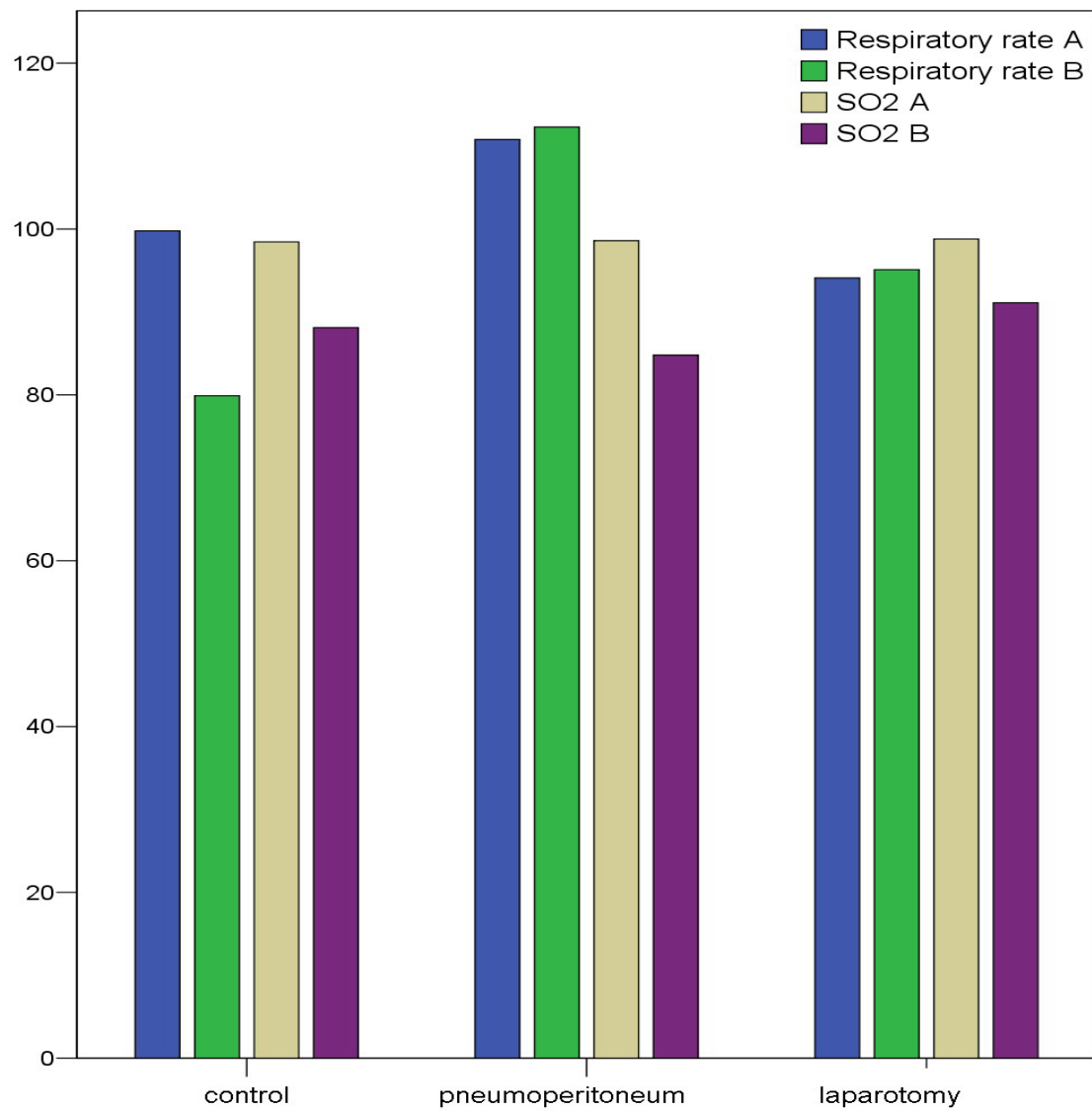


Γράφημα 2



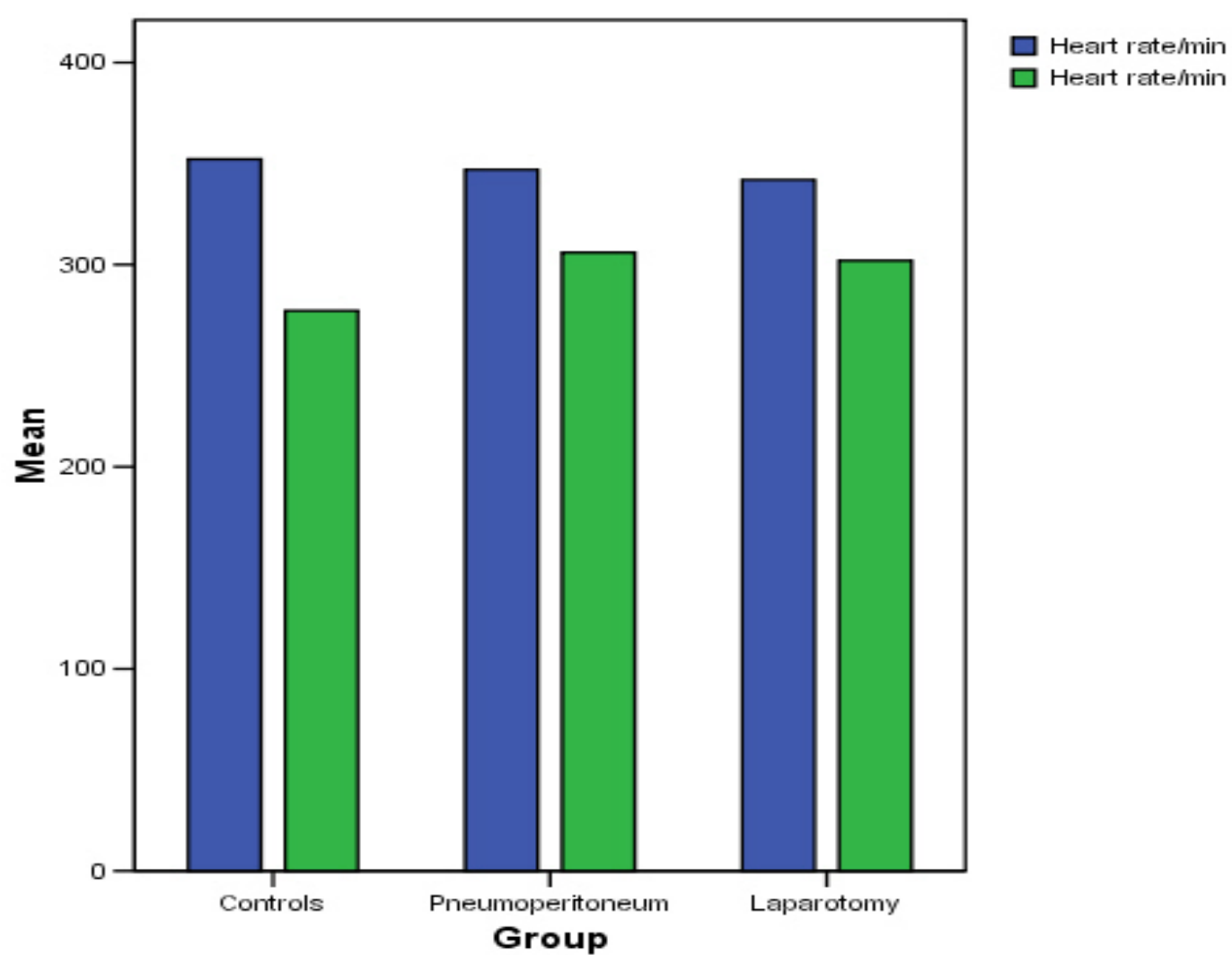
Γράφημα 3

Το βακτηριακό φορτίο στον σπλήνα, το ήπαρ και τον πνεύμονα. Οι ποιοτικές καλλιέργειες ανέδειξαν την *Pseudomonas aeruginosa* . Ενδιαφέρον παρουσιάζει η σταθερά ανάπτυξη αποικιών στα τεμάχια του σπληνός σε αντίθεση με τα άλλα όργανα.



Γράφημα 4 Αναπνευστική συχνότητα/κορεσμός O₂ την ώρα 6 και 8

Γράφημα 5 Καρδιακή συχνότητα/min



ΜΕΛΕΤΗ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ MCP-1 και IL-18 ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΕΡΙΤΟΝΙΤΙΔΑΣ ΚΑΙ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΗΣΗΣ Η ΛΑΠΑΡΟΤΟΜΙΑΣ

Για την αξιολόγηση των μορίων MCP-1 και IL-18 σε μοντέλο περιτονίτιδας και λαπαροσκόπησης ή λαπαροτομίας σχεδιάστηκε πείραμα κατά το οποίο προκλήθηκε περιτονίτιδα σε ζωικά πρότυπα επίμυες Wistar. Για να επιτευχθεί η επιθυμητή περιτονίτιδα έγινε ενδοπεριτοναϊκή έγχυση 1ml διαλύματος *Pseudomonas aeruginosa* σε ανάπτυξη 10^8 CFU. Με την πάροδο έξι ωρών τα ζωικά πρότυπα ανάλογα την ομάδα στην οποία άνηκαν υπεβλήθησαν σε λαπαροτομία και έκπλυση της περιτοναϊκής κοιλότητας με φυσιολογικό ορό 30 ml ή σε λαπαροσκοπική έκπλυση της περιτοναϊκής κοιλότητας με φυσιολογικό ορό 30 ml μετά την εγκατάσταση πνευμοπεριτοναίου. Με την πάροδο δέκα ωρών από την στιγμή έγχυσης του βακτηρίου ακολούθησε η ευθανασία των ζωικών προτύπων ώστε να συλλεχθεί αίμα και τεμάχια σπληνός, ήπατος και πνευμόνων τα οποία και χρησιμοποιήθηκαν για ποσοτικές και ποιοτικές καλλιέργειες. Συμπεριλήφθησαν εκτός από την ομάδα ελέγχου στην οποία δεν έγινε κανένας χειρισμός μια ομάδα εικονικής (sham) περιτονίτιδας λαπαροσκόπησης και μια ομάδα εικονικής περιτονίτιδας λαπαροτομίας όπου η περιτοναϊκή κοιλότητα των ζωικών προτύπων ενοφθαλμίστηκε με 1ml φυσιολογικού ορού αντί του μικροβιακού διαλύματος.

Αξιολογήθηκαν οι παρακάτω παράμετροι: Θερμοκρασία ορθού, σφύξεις/min, κορεσμός οξυγόνου, αναπνοές/min, ιστικές καλλιέργειες

(πνεύμονος, σπληνός και ήπατος), IL-18 και MCP-1 ορού. Οι συγκεντρώσεις ορού των IL-18 και MCP-1 προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο ELISA. Χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχα kit των εταιρειών Medical and Biological Laboratories. CO., LTD code No 7625 / Ray Biotech, Inc. Cat#: ELM-MCP-1 001

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΕΚΤΕΛΕΣΗΣ

Η πειραματική μελέτη πριν την πραγματοποίηση της εξασφάλισε «Άδεια Πειραματισμού» του Επιστημονικού Υπευθύνου από τη Νομαρχία Αθηνών, σύμφωνα με το προβλεπόμενο Προεδρικό Διάταγμα, 160/91 με το οποίο εναρμονίσθηκε η Ελλάδα στην Κοινοτική Οδηγία 609/86.

Τα ζώα παρέμειναν σε ξεχωριστά μεταλλικά κλουβιά με ελεύθερη πρόσβαση στο νερό και στη συνήθη τροφή τους. Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος κυμάνθηκε μεταξύ 180C και 220C, η σχετική υγρασία σε 65% και ο κύκλος φωτός/σκότους 8πμ με 8μμ.

Χρησιμοποιήθηκαν 50 υγιείς επίμυες Wistar βάρους 180-250gr τα οποία χωρίστηκαν σε μια ομάδα ελέγχου αποτελούμενη από 10 ζωικά πρότυπα και 4 ομάδες επίσης 10 ζωικά προτύπων. Αναισθησία επιτεύχθηκε με αιθέρα και ενδομυϊκή ένεση υδροχλωρικής κεταμίνης 5mg/100mg βάρους σώματος. Δεν δόθηκε τροφή και νερό 8 ώρες πριν την έναρξη του πειράματος. Περιτονίτιδα προκλήθηκε με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση ενοφθαλμίσματος *Pseudomonas aeruginosa* 1ml * 10⁸ CFU [8].

Ομάδα Α (Ομάδα ελέγχου, n=10): Στην ομάδα αυτή χορηγήθηκε αναισθησία διάρκειας 30 λεπτών.

Ομάδα Β (Εικονική περιτονίτιδα-Λαπαροτομή, n=10): Η ομάδα Β υποβλήθηκε σε έγχυση 1 ml φυσιολογικού ορού στην περιτοναϊκή κοιλότητα υπό γενική αναισθησία. Με την πάροδο 6 ωρών χορηγήθηκε αναισθησία και διενεργήθηκε υπερυπομφάλιος λαπαροτομή 4cm. Η κοιλιά παρέμεινε ανοικτή για 30 min και έγινε συρραφή σε δυο στρώματα με ράμματα 4-0 Ethilon.

Ομάδα Γ (Εικονική περιτονίτιδα-Πνευμοπεριτόναιο, n=10): Η ομάδα Γ υποβλήθηκε σε έγχυση φυσιολογικού ορού στην περιτοναϊκή κοιλότητα υπό γενική αναισθησία. Μετά την έκτη ώρα παρακολούθησης, οι επίμυες της ομάδας αυτής υπεβλήθησαν σε γενική αναισθησία και εγκατάσταση πνευμοπεριτοναίου (5 mmHg με ροή 0.2L/min) χρησιμοποιώντας βελόνη Veress η οποία συνδέθηκε με συσκευή πνευμοπεριτοναίου CO₂. Επιπλέον εισήχθησαν διαδερμικά στην περιτοναϊκή κοιλότητα δυο καθετήρες 18G. Η διάρκεια της επέμβασης ήταν επίσης 30 λεπτά.

Ομάδα Δ (Περιτονίτιδα + Λαπαροτομή, n=10): Στα ζωικά πρότυπα της ομάδας αυτής ενοφθαλμίστηκε στο περιτόναιο διάλυμα 1ml *P. aeruginosa* σε ανάπτυξη 10⁸ CFU υπό γενική αναισθησία. Έξι ώρες μετά τα ζωικά πρότυπα υποβλήθησαν σε γενική αναισθησία και υπερυπομφάλιο λαπαροτομή 4cm. Η κοιλιακή κοιλότητα αφέθηκε ανοικτή για 30 λεπτά και συνερράφη σε δυο στρώματα με ράμματα 4-0 Ethilon.

Ομάδα Ε (Περιτονίτιδα + Πνευμοπεριτόναιο, n=10): Οι επίμυες της ομάδας Ε υπεβλήθησαν σε γενική αναισθησία, ενοφθαλμισμό του περιτοναίου με διάλυμα 1ml *P. aeruginosa* σε ανάπτυξη 10^8 CFU. Όλοι οι επίμυες ανένηψαν από την αναισθησία ευχερώς. Έξι ώρες μετά υπεβλήθησαν σε εγκατάσταση πνευμοπεριτοναίου 5 mmHg με ροή 0.2L/min χρησιμοποιώντας βελόνη Veress η οποία συνδέεται με συσκευή πνευμοπεριτοναίου CO₂. Επιπλέον τοποθετήθηκαν διαδερμικά ενδοπεριτοναϊκά δυο καθετήρες 18G. Η επέμβαση διήρκεσε 30 λεπτά.

Σε όλες τις ομάδες που υπέστησαν επεμβατικούς χειρισμούς διενεργήθηκε έκπλυση της περιτοναϊκής κοιλότητας με 30cc φυσιολογικού ορού κατά τη διάρκεια της λαπαροτομίας ή λαπαροσκόπησης.

Τα δείγματα ορού διαχωρίστηκαν από το ολικό αίμα με φυγοκέντρηση (3000g) στους 4°C για 10 λεπτά και αποθηκεύθηκαν σε θερμοκρασία -80°C.

Παράμετροι προς αξιολόγηση αποτελέσματα και στατιστική ανάλυση

IL-18, MCP-1

Στατιστική Ανάλυση

Οι αριθμητικές μεταβλητές περιγράφονται ως μέσοι όροι ± 1 τυπική απόκλιση. Οι κατηγορικές μεταβλητές περιγράφονται ως συχνότητες και ποσοστά %. Η κανονικότητα των κατανομών εκτιμήθηκε με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov και γραφικές μεθόδους.

Οι συγκρίσεις μεταξύ πολλαπλών ομάδων πραγματοποιήθηκαν με ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) και τον εκ των υστέρων έλεγχο False Discovery Rate (FDR) των Benjamini & Hochberg. Ως μη παραμετρική δοκιμασία για τη διενέργεια συγκρίσεων πολλαπλών ομάδων χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Kruskal-Wallis, με χρήση της δοκιμασίας Mann-Whitney's U test και του FDR ως εκ των υστέρων ελέγχους.

Οι πιθανές γραμμικές συσχετίσεις εκτιμήθηκαν με τον υπολογισμό του συντελεστή συσχέτισης Pearson, σε περιπτώσεις συνεχών κανονικά κατανεμόμενων παραμέτρων και με τον υπολογισμό του μη παραμετρικού Spearman's rho.

Όλοι οι πραγματοποιηθέντες έλεγχοι ήταν διπλής διευσθύνσεως. Επίπεδο σημαντικότητας επιλέχθηκε το $p=0.05$.

Descriptives				
Group		Statistic		Std. Error
MCP1	Control	Mean	16.602800	5.9430901
		95% Confidence Interval for Lower Bound	3.158596	
		Mean Upper Bound	30.047004	
		5% Trimmed Mean	14.306389	
		Median	10.339500	
		Variance	353.203	
		Std. Deviation	18.7937011	
		Minimum	5.9250	
		Maximum	68.6160	
		Range	62.6910	
		Interquartile Range	7.2670	
		Skewness	2.865	.687
		Kurtosis	8.527	1.334
Pseudo LpT		Mean	46.019500	14.3503229
		95% Confidence Interval for Lower Bound	13.556814	
		Mean Upper Bound	78.482186	
		5% Trimmed Mean	40.941111	
		Median	31.113500	
		Variance	2059.318	
		Std. Deviation	45.3797055	
		Minimum	16.5030	
		Maximum	166.9470	
		Range	150.4440	
		Interquartile Range	39.1440	
		Skewness	2.507	.687
		Kurtosis	6.790	1.334
Pseudo LpS		Mean	140.751800	83.5359691
		95% Confidence Interval for Lower Bound	-48.219691	
		Mean Upper Bound	329.723291	
		5% Trimmed Mean	106.502556	
		Median	33.472000	
		Variance	69782.581	
		Std. Deviation	264.1639288	
		Minimum	19.5730	
		Maximum	878.4170	
		Range	858.8440	
		Interquartile Range	124.1083	
		Skewness	2.953	.687

		Kurtosis	8.980	1.334
Sham LpT	Mean		45.542400	28.0265347
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	-17.858026	
	Mean	Upper Bound	108.942826	
	5% Trimmed Mean		34.072056	
	Median		18.915000	
	Variance		7854.866	
	Std. Deviation		88.6276845	
	Minimum		1.9520	
	Maximum		295.5990	
	Range		293.6470	
	Interquartile Range		17.1378	
	Skewness		3.064	.687
	Kurtosis		9.526	1.334
Sham LpS	Mean		28.507200	13.4298021
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	-1.873123	
	Mean	Upper Bound	58.887523	
	5% Trimmed Mean		23.369111	
	Median		15.184500	
	Variance		1803.596	
	Std. Deviation		42.4687632	
	Minimum		4.1570	
	Maximum		145.3430	
	Range		141.1860	
	Interquartile Range		26.9175	
	Skewness		2.798	.687
	Kurtosis		8.240	1.334
Il-18	Control	Mean	2.30	1.687
		95% Confidence Interval for	Lower Bound	-1.52
		Mean	Upper Bound	6.12
		5% Trimmed Mean		1.61
		Median		.00
		Variance		28.456
		Std. Deviation		5.334
		Minimum		0
		Maximum		17
		Range		17
		Interquartile Range		3
		Skewness		2.833
				.687

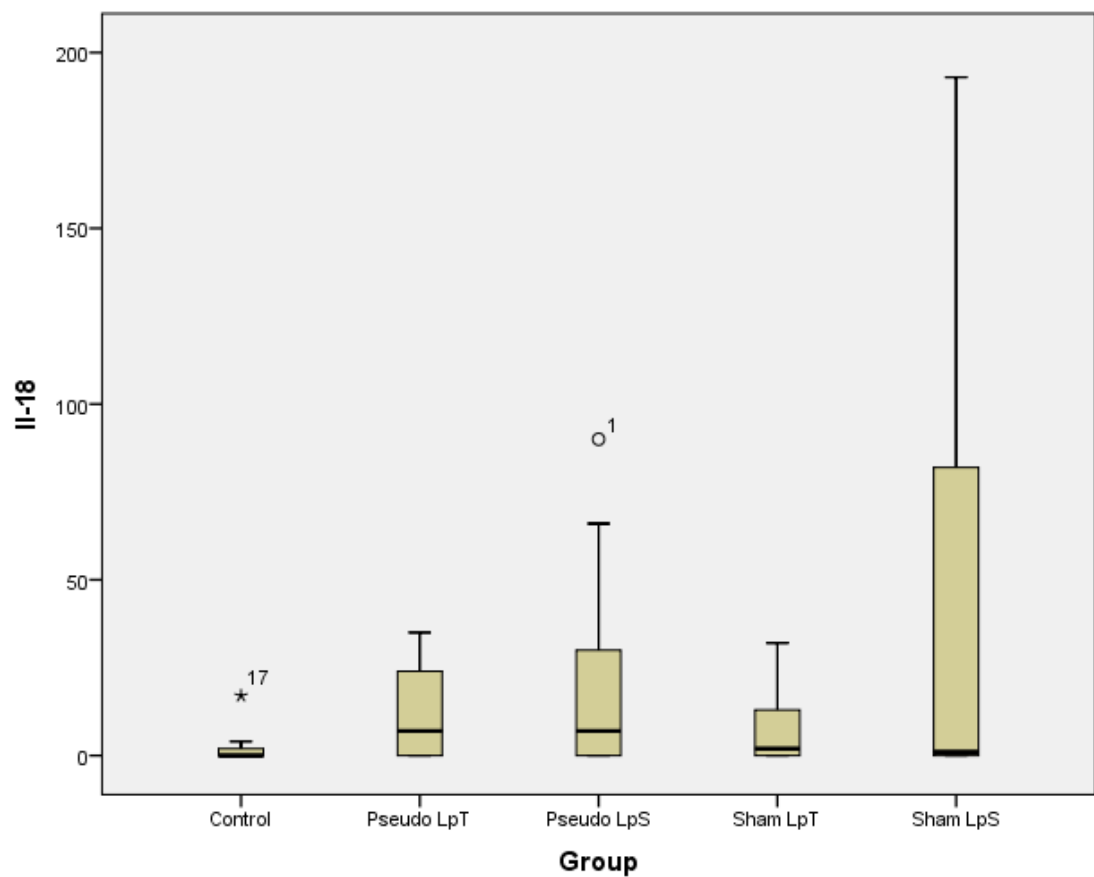
	Kurtosis		8.302	1.334
Pseudo LpT	Mean		12.40	4.058
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	3.22	
	Mean	Upper Bound	21.58	
	5% Trimmed Mean		11.83	
	Median		7.00	
	Variance		164.711	
	Std. Deviation		12.834	
	Minimum		0	
	Maximum		35	
	Range		35	
	Interquartile Range		24	
	Skewness		.606	.687
	Kurtosis		-1.223	1.334
Pseudo LpS	Mean		21.27	9.615
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	-.15	
	Mean	Upper Bound	42.70	
	5% Trimmed Mean		18.64	
	Median		7.00	
	Variance		1017.018	
	Std. Deviation		31.891	
	Minimum		0	
	Maximum		90	
	Range		90	
	Interquartile Range		49	
	Skewness		1.440	.661
	Kurtosis		.795	1.279
Sham LpT	Mean		7.50	3.307
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	.02	
	Mean	Upper Bound	14.98	
	5% Trimmed Mean		6.56	
	Median		2.00	
	Variance		109.389	
	Std. Deviation		10.459	
	Minimum		0	
	Maximum		32	
	Range		32	

	Interquartile Range		14	
	Skewness		1.617	.687
	Kurtosis		2.574	1.334
Sham LpS	Mean		43.60	21.538
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	-5.12	
	Mean	Upper Bound	92.32	
	5% Trimmed Mean		37.72	
	Median		1.00	
	Variance		4638.711	
	Std. Deviation		68.108	
	Minimum		0	
	Maximum		193	
	Range		193	
	Interquartile Range		93	
	Skewness		1.514	.687
	Kurtosis		1.395	1.334

Пив. 5

Αποτελέσματα IL-18

Τα επίπεδα της IL-18 στον ορό δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων.



Γράφημα 6

control	Pseudo LpT	Pseudo LpS	Sham LpT	Sham Lps
Ομάδα ελέγχου	Περιτονίτιδα Λαπαροτομία	Περιτονίτιδα Λαπαροσκόπηση	Εικονική Περιτονίτιδα Λαπαροτομία	Εικονική Περιτονίτιδα Λαπαροσκόπηση

Αποτελέσματα MCP-1

Η ομάδα ελέγχου και οι ομάδες περιτονίτιδας οι οποίες υποβλήθηκαν είτε σε λαπαροσκόπηση είτε σε υπερυπομφάλιο λαπαροτομή εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα MCP-1 στον ορό, σε αντίθεση με τις ομάδες εικονικής περιτονίτιδας όπου δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Ακόμη πρέπει να τονιστεί ότι δεν αναδεικνύεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων εικονικής περιτονίτιδας λαπαροτομής και εικονικής περιτονίτιδας λαπαροσκόπησης όπως και μεταξύ των ομάδων περιτονίτιδας λαπαροσκόπησης και περιτονίτιδας λαπαροτομής.

Αποτελέσματα MCP-1

Control-Peritonitis Laparotomy $p=0.015$

Control-Peritonitis Laparoscopy $p=0.01$

Control -Sham Laparotomy $p=0.27$

Control -Sham Laparoscopy $p=0.58$

Peritonitis Laparotomy - Peritonitis $p=0.58$

Peritonitis Laparotomy - Sham $p=0.15$

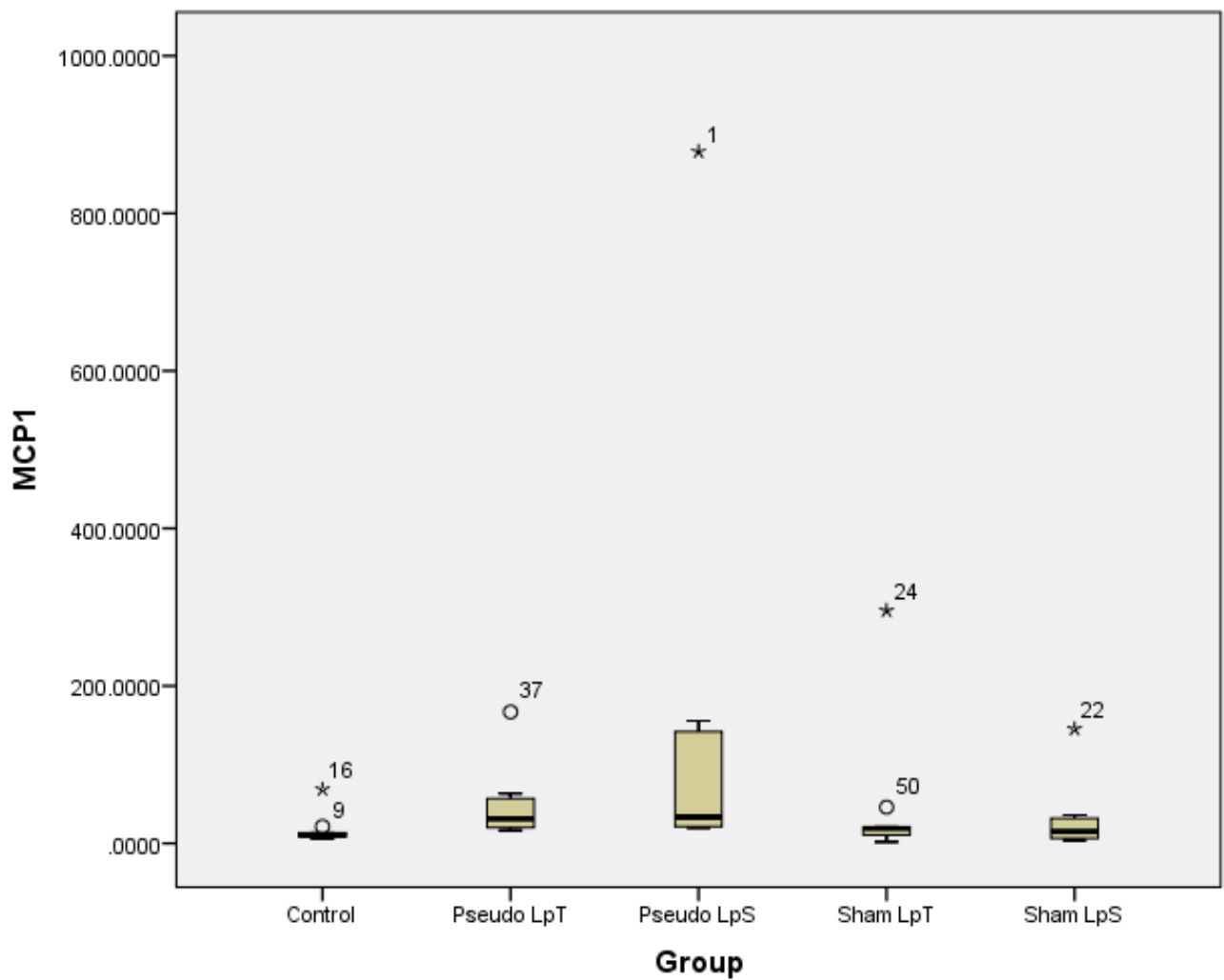
Peritonitis Laparotomy -Sham $p=0.086$

Peritonitis Laparoscopy - Sham $p=0.0375$

Peritonitis Laparoscopy - Sham $p=0.0375$

Sham Laparotomy - Sham $p=0.58$

Πιν. 6



Γράφημα 7

control	Pseudo LpT	Pseudo LpS	Sham LpT	Sham Lps
Ομάδα ελέγχου	Περιτονίτιδα Λαπαροτομία	Περιτονίτιδα Λαπαροσκόπηση	Εικονική Περιτονίτιδα Λαπαροτομία	Εικονική Περιτονίτιδα Λαπαροσκόπηση

Συμπέρασμα Διατριβής

Σύμφωνα με τα παραπάνω ευρήματα η γενική κατάσταση των ζωικών προτύπων των ομάδων Β και Γ δεν επηρεάστηκε από τους θεραπευτικούς χειρισμούς. Φαίνεται ότι η έκπλυση της περιτοναϊκής κοιλότητας είναι θεραπευτικός χειρισμός για το δεδομένο μοντέλο περιτονίτιδας και είναι πιθανό η χρήση μεγαλύτερου όγκου υγρών να έδειχνε βελτιωμένη επιβίωση και στην ομάδα πνευμοπεριτονιού. Ακόμη διαπιστώθηκε ότι η βακτηριακή αλλόθεση παραμένει σταθερή και δεν αυξάνεται στο πνευμοπεριτόναιο όπως αναφέρουν άλλοι συγγραφείς.

Οι στατιστικώς σημαντικές διαφορές στις τιμές του μορίου MCP-1 στον ορό μεταξύ των ομάδων ελέγχου και των ομάδων περιτονίτιδας και λαπαροτομής ή λαπαροσκόπησης καταδεικνύουν την επίπτωση της περιτονίτιδας στα ζωικά πρότυπα καθώς το μόριο MCP-1 επηρεάζεται σύντομα με την εγκατάσταση μιας φλεγμονής στον οργανισμό. Το άνωθεν συμπέρασμα ενισχύεται από την στατιστικά σημαντική διαφορά των επιπέδων του MCP-1 ορού μεταξύ των ομάδων της περιτονίτιδας λαπαροσκόπησης και των ομάδων εικονικής περιτονίτιδας και λαπαροσκόπησης ή λαπαροτομής.

Το μόριο MCP-1 επηρεάστηκε σε ίδιο βαθμό από το είδος της επέμβασης που χρησιμοποιήθηκε για την διερεύνηση της κοιλίας. Αντιθέτα στις ομάδες που προκλήθηκε περιτονίτιδα τα αποτελέσματα μαρτυρούν την επίδραση της φλεγμονής στο μόριο MCP-1. Λαμβάνοντας υπόψη τα

παραπάνω καθώς και ότι η βακτηριακή αλλόθεση δεν παρουσιάζει διαφορές μεταξύ των ομάδων αλλά και ότι τα ζωικά πρότυπα που συμπεριλήφθησαν στην μελέτη επιβίωσης δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στην επιβίωση συμπεραίνεται ότι η ερευνητική λαπαροσκόπηση είναι ισοδύναμη μέθοδος διερεύνησης της κοιλίας σε σχέση με την ερευνητική λαπαροτομία καθώς δεν επιβάρυνε την υγεία των ζωικών προτύπων στον κλινικό αλλά και εργαστηριακό έλεγχο που διενεργήθηκε.

Όσον αφορά στο ρόλο του MCP-1 στην καταπολέμηση της φλεγμονής συμπεραίνεται ότι είναι αναμφίβολα κεντρικός. Το παραπάνω συμπέρασμα ενισχύεται από πολυκεντρικές κλινικές μελέτες όπου πολλοί ανταγωνιστές του CCR2 δοκιμάζονται σε νοσήματα χρόνιας φλεγμονής. Συγκεκριμένα ελέγχονται σε φάση III οι: INCB 3284 και INCB 8689 (Incyte), ο CCX915 (Chemo Centryx) και ο MLN 1202 (Millennium). Η ανακάλυψη φαρμάκων που αναστέλλουν τις δράσεις των προφλεγμονωδών κυτταροκινών χωρίς παρενέργειες μπορεί να είναι και το Άγιο Δισκοπότηρο που ψάχνουν οι ερευνητές της φλεγμονής και των λοιμώξεων.

Θεωρώντας δεδομένα όπως

- την ταχύτερη επούλωση των τομών προσπέλασης
- την μηδαμινή πιθανότητα επιλοκών (λοίμωξη τραύματος, διάσπαση τραύματος, κοιλιοκήλη) προερχόμενων εκ των τομών προσπέλασης στη λαπαροσκόπηση

- το λιγότερο πόνο κατά τη μετεγχειρητική περίοδο
- το ανώτερο αισθητικό αποτέλεσμα
- την ταχύτερη επάνοδο στην καθημερινότητα των ασθενών που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπική διερεύνηση περιτονίτιδας

Πρέπει να συμπεράνουμε ότι η μέθοδος αυτή είναι η βέλτιστη για την αντιμετώπιση όσων ασθενών χρήζουν διερεύνησης της περιτοναϊκής κοιλότητας ακόμη και σε περιπτώσεις περιτονίτιδας.

Η λαπαροσκόπηση φαίνεται να έχει διακριτά πλεονεκτήματα στην διάγνωση και θεραπεία της περιτονίτιδας και σήψης ενδοκοιλιακής αιτιολογίας. Παρότι η τεχνική αφαιρεί από τον χειρουργό την αίσθηση της αφής, το χειρουργικό πεδίο που προσφέρει και το ελάχιστο τραύμα που προκαλεί στον ασθενή καθιστούν την προσπέλαση αυτή κατάλληλη για πολλούς ασθενείς. Επιπλέον προσφέρει την βιοψία ιστού και την συλλογή υγρού υπό οπτική παρακολούθηση σε αντίθεση με της διαδερμικές ακτινολογικές παρακεντήσεις. Η πλειοψηφία των αιτιών ενδοκοιλιακής σήψης μπορούν να διαγνωσθούν αλλά και να θεραπευθούν μέσω της λαπαροσκόπησης και έτσι το ποσοστό μη αναγκαίων λαπαροτομιών θα μειωνόταν αισθητά. Η λαπαροτομία είναι μια επέμβαση η οποία φέρει ποσοστά νοσηρότητας σημαντικά υψηλότερα από ότι η λαπαροσκόπηση. Επιπλέον ο ανθρώπινος οργανισμός φέρεται να καθίσταται πιο ανοσοϊκανός μετά από επεμβάσεις λαπαροσκόπησης σε σχέση με ασθενείς που υποβλήθησαν σε λαπαροτομία.

Παραμένει στο μέλλον να μελετηθεί η τεχνική δυνατότητα των λαπαροσκοπών χειρουργών να επιχειρούν λαπαροσκοπικές επεμβάσεις με τα βέλτιστα αποτελέσματα για πληθώρα νοσολογικών οντοτήτων που μπορεί να καταλήξουν σε περιτονίτιδα. Φαίνεται ότι η εποχή που η λαπαροσκόπηση ήταν μέθοδος προσπέλασης στην κοιλιά των ασθενών μόνο για μεμονωμένες χειρουργικές παθήσεις έχει προ πολλού ξεπεραστεί. Σύμφωνα με τους Ning et al [232] οι οποίοι δημοσίευσαν μελέτη κατά την οποία σκοπός ήταν να μελετηθεί η κλινική εφαρμογή της λαπαροσκόπησης σε ασθενείς που παρουσίασαν οξεία κοιλία συμπαιρνούν ότι η λαπαροσκόπηση είναι ασφαλής και η πλέον κατάλληλη μέθοδος για να διαγνωστεί η οξεία κοιλία. Επιπροσθέτως αναφέρεται ότι σε πολλές περιπτώσεις είναι και η θεραπευτική μέθοδος εκλογής. Στα αποτελέσματά τους αναφέρουν ότι σε διάστημα τεσσάρων ετών 95% των ασθενών με οξεία κοιλία υποβλήθηκαν σε επιτυχημένη διαγνωστική λαπαροσκόπηση και 77,3 % προχώρησαν σε θεραπευτική λαπαροσκοπική επέμβαση. Σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου που αποτελείτο από 67 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ερευνητική λαπαροτομία η ομάδα των λαπαροσκοπηθέντων ασθενών παρουσίασε μικρότερη απώλεια αίματος, ταχύτερη λειτουργία του εντέρου και σίτηση. Ακόμη οι Navez et al το 2013 [233] αναφέρουν ότι η λαπαροσκόπηση τείνει να γίνει επέμβαση εκλογής για την διάγνωση και θεραπεία της οξείας κοιλίας. Βέβαια τονίζουν ότι απαιτείται η υπερεξειδίκευση του λαπαροσκόπου χειρουργού στην λαπαροσκόπηση σε ασθενείς που παρουσιάζουν οξεία

κοιλία. Σύμφωνα με τους συγγραφείς η αιμοδυναμική αστάθεια, ο εξεσημασμένος μετεωρισμός της κοιλίας, η κοπρανώδης περιτονίτιδα και η διάτρηση σπλάγχνου σε έδαφος καρκίνου αποτελούν σχετικές αντενδείξεις. Πολλές κλινικές μελέτες υφίστανται στις οποίες φαίνεται ότι η οξεία σκωληκοειδίτιδα, η οξεία χολοκυστίτιδα, και η διάτρηση πεπτικού έλκους μπορούν να αντιμετωπιστούν με τη λαπαροσκοπική μέθοδο. Περαιτέρω, αναφέρουν ότι ο ειλεός και η διάτρηση σε έδαφος εκκολπωματίτιδας είναι νοσολογικές οντότητες για τις οποίες χρειάζονται περισσότερες κλινικές μελέτες ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα.

Είναι επιτακτική ανάγκη να τεκμηριώσουμε με την έρευνά μας την υπεροχή της λαπαροσκοπικής επέμβασης έναντι της κλασσικής λαπαροτομής στον σηπτικό ασθενή, να δώσουμε στον κλινικό ιατρό ένα προγνωστικό δείκτη επιβίωσης των ασθενών αυτών καθώς και ένα τεκμηριωμένο τρόπο επιλογής της κατάλληλης χειρουργικής επέμβασης σε σηπτικούς ασθενείς.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Λέξεις κλειδιά: πνευμοπεριτόναιο, λαπαροσκόπηση, λαπαροτομή, περιτονίτιδα, σήψη

Σκοπός : Σκοπός της παρούσης μελέτης είναι η διερεύνηση των επιπτώσεων της λαπαροτομής και της λαπαροσκόπησης σε περιβάλλον ενδοκοιλιακής σήψης.

Μεθοδολογία: Η έρευνα υποστηρίζεται από δύο πειράματα: α) Μία εκτενή μελέτη επιβίωσης και β) *In vivo* μελέτη μοριακών μηχανισμών.

Για την μελέτη επιβίωσης χρησιμοποιήθηκαν 29 αρσενικοί επίμυες Wistar, χωρισμένοι τυχαιοποιημένα σε τρεις ομάδες (Ελέγχου, Λαπαροτομής κατόπιν περιτονίτιδας, Πνευμοπεριτοναίου κατόπιν περιτονίτιδας). Για τη μοριακή μελέτη των συγκεντρώσεων των προφλεγμονωδών παραγόντων MCP-1 και IL-18 στον ορό του αίματος των ζώικών προτύπων, πραγματοποιήθηκε το αυτό μοντέλο πειραματικής περιτονίτιδας σε 50 επίμυες Wistar.

Και στα δύο πρωτόκολλα, περιτονίτιδα προκλήθηκε με διάλυμα *Pseudomonas aeruginosa* 10^8 CFU. Αναλυτικότερα, τα ζωικά πρότυπα της μελέτη επιβίωσης χωρίστηκαν: Α) Στην ομάδα Ελέγχου, στην οποία έγινε ενδοκοιλιακή έγχυση του βακτηρίου *Pseudomonas aeruginosa* και δεν ακολούθησαν περαιτέρω

θεραπευτικοί χειρισμοί, Β) ομάδα στην οποία μετά την έγχυση του βακτηρίου *Pseudomonas aeruginosa* , και αναμονή διάρκειας έξι ωρών οι επίμυες υπεβλήθησαν σε πνευμοπεριτόναιο και Γ) ομάδα στην οποία μετά την έγχυση του βακτηρίου *Pseudomonas aeruginosa* και την πάροδο έξι ωρών διενεργήθησαν λαπαροτομές. Στις ομάδες Β και Γ έγιναν θεραπευτικοί χειρισμοί καθώς κατά τη διάρκεια των επεμβάσεων έγιναν πλύσεις τις περιτοναϊκής κοιλότητας με 30ml φυσιολογικού ορού.

Τα ζωικά πρότυπα της μελέτης επιβίωσης τέθηκαν υπό παρακολούθηση για 144 ώρες και εν συνεχεία υπεβλήθησαν σε ευθανασία. Συλλέχθηκαν: Τεμάχια ήπατος, σπληνός και πνεύμονος τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τη διενέργεια ποιοτικών και ποσοτικών καλλιεργειών ιστοτεμαχίων. Η επιβίωση των ζωικών προτύπων, το βακτηριακό φορτίο στα σπλάχνα, η θερμοκρασία ορθού, ο κορεσμός οξυγόνου, η καρδιακή συχνότητα, η αναπνευστική συχνότητα και οι απώλειες βάρους αποτέλεσαν τις παραμέτρους σύγκρισης των δυο τεχνικών.

Για μοριακή μελέτη των επιπέδων MCP-1 και IL-18 ορού χρησιμοποιήθηκαν επιπλέον 50 υγιείς επίμυες Wistar βάρους 180-250gr. Τα ζωικά πρότυπα χωρίστηκαν σε 5 ισάριθμες ομάδες. Συγκεκριμένα χωρίστηκαν στην ομάδα ελέγχου, στην ομάδα περιτονίτιδας λαπαροτομής, στην ομάδα περιτονίτιδας λαπαροσκόπησης, στην ομάδα εικονικής περιτονίτιδας (ενοθαλμισμός ισόποσου στείρου διαλύματος) λαπαροσκόπησης και στην ομάδα εικονικής περιτονίτιδας λαπαροτομής.

Σε όλες τις ομάδες αναισθησία επιτεύχθηκε με αιθέρα και ενδομυϊκή ένεση υδροχλωρικής κεταμίνης 5mg/100mg βάρους σώματος. Δε δόθηκε τροφή και νερό 8 ώρες πριν την έναρξη του πειράματος. Σήψη προκλήθηκε με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση ενοφθαλμίσματος *Pseudomonas aeruginosa* 1ml * 10⁸ CFU, ενώ στις ομάδες εικονικής περιτονίτιδας ενοφθαλμίστηκε 1ml φυσιολογικού ορού στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Οι επίμυες των δυο ομάδων εικονικής περιτονίτιδας υπεβλήθησαν αντιστοίχως σε λαπαροτομή και εγκατάσταση πνευμοπεριτοναίου.

Με την πάροδο έξι ωρών τα ζωικά πρότυπα ανάλογα την ομάδα στην οποία ανήκαν υπεβλήθησαν σε λαπαροτομία και έκπλυση της περιτοναϊκής κοιλότητας με 30 ml φυσιολογικού ορού ή σε λαπαροσκοπική έκπλυση της περιτοναϊκής κοιλότητας με 30 ml φυσιολογικού ορού μετά την εγκατάσταση πνευμοπεριτοναίου. Με την πάροδο δέκα ωρών από την στιγμή έγχυσης του βακτηρίου ακολούθησε η ευθανασία των ζωικών προτύπων ώστε να συλλεχθεί αίμα για τον προσδιορισμό των επιπέδων IL-18 και MCP-1 ορού με τη μέθοδο ELISA. Χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχα kit των εταιρειών Medical and Biological Laboratories. CO., LTD code No 7625 / Ray Biotech, Inc. Cat#: ELM-MCP-1 001

Αποτελέσματα: Κατά την μελέτη επιβίωσης ο μέσος χρόνος επιβίωσης (mean survival) των τριών ομάδων ήταν: Ελέγχου (Α): 9.44 ± 0.45, Πνευμοπεριτοναίου-περιτονίτιδας (Β): 51.1 ± 19.28 και Λαπαροτομής-περιτονίτιδας (Γ): 64.12 ± 20.63 ώρες. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική

διαφορά μεταξύ της ομάδας ελέγχου και λαπαροτομίας ($p < 0.0027$). Ακόμη, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας A-B και A-Γ στην αναπνευστική συχνότητα ($p = 0.008$), ενώ στις ομάδες A και B παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στον κορεσμό οξυγόνου την ώρα 6 και 8 ($p = 0.002$). Το μικροβιακό φορτίο δε φάνηκε να παρουσιάζει εμφανείς διαφορές μεταξύ των καλλιεργημένων ιστοτεμαχίων των τριών ομάδων.

Στο πείραμα προσδιορισμού των επιπέδων των κυτοκινών, τα επίπεδα της IL-18 στον ορό δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Η ομάδα ελέγχου και οι ομάδες περιτονίτιδας οι οποίες υπεβλήθησαν είτε σε λαπαροσκόπηση είτε σε υπερυπομφάλιο λαπαροτομή εμφάνισαν στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα MCP-1 στον ορό, σε αντίθεση με τις ομάδες εικονικής περιτονίτιδας όπου δεν υπήρξαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα στατιστικής σημαντικότητας ήταν:

MCP-1

Control-Peritonitis Laparotomy $p = 0.015$

Control-Peritonitis Laparoscopy $p = 0.01$

Peritonitis Laparoscopy - Sham Laparoscopy $p = 0.0375$

Peritonitis Laparoscopy - Sham Laparotomy $p = 0.0375$

Ακόμη πρέπει να τονιστεί ότι δεν αναδεικνύεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων εικονικής περιτονίτιδας λαπαροτομής και εικονικής περιτονίτιδας λαπαροσκόπησης όπως και μεταξύ των ομάδων περιτονίτιδας λαπαροσκόπησης και περιτονίτιδας λαπαροτομής.

Συμπεράσματα : Το μοντέλο αυτό δείχνει ότι η λαπαροτομή εν συγκρίσει με την λαπαροσκόπηση δεν παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα ως προς την επιβίωση και το βακτηριακό φορτίο στα σπλάχνα. Αξίζει να σημειωθεί ότι στο μοντέλο αυτό η χρήση CO₂ δε φαίνεται να επηρεάζει την βακτηριακή αλλόθεση. Οι δείκτες φλεγμονής IL-18 και MCP-1 δεν εμφανίζουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ομάδες λαπαροσκόπησης – λαπαροτομής στην περιτονίτιδα. Εφόσον η λαπαροσκόπηση έναντι της λαπαροτομίας σε περιβάλλον περιτονίτιδας δεν επηρεάζει την επιβίωση των ζωικών προτύπων και δεν αυξάνεται η επίπτωση της βακτηριακής αλλόθεσης από το καρβοπεριτόναιο, συμπεραίνεται ότι η λαπαροσκόπηση υπερτερεί της λαπαροτομίας. Η λαπαροσκόπηση υπερτερεί έναντι της λαπαροτομής καθώς με την λαπαροσκοπική μέθοδο επιτυγχάνεται η ταχύτερη επούλωση των τομών προσπέλασης, παρουσιάζεται μικρότερη πιθανότητα επιπλοκών προερχόμενων εκ των τομών προσπέλασης (χειρουργική λοίμωξη, διάσπαση τραύματος, κοιλιοκήλη). Επίσης παρουσιάζεται λιγότερος πόνος κατά τη μετεγχειρητική περίοδο, προσφέρεται ανώτερο αισθητικό αποτέλεσμα και

καθιστά ταχύτερη την επάνοδο των ασθενών στην εργασία και την καθημερινότητα.

COMPARATIVE EXPERIMENTAL MODEL FOR THE EVALUATION OF SEPSIS ON LAPAROTOMY VS SEPSIS ON LAPAROSCOPY

Key words: pneumoperitoneum, laparoscopy, laparotomy, peritonitis, sepsis

ABSTRACT

INTRODUCTION: Laparoscopy, in contrast to laparotomy has been proven to be the golden standard in various procedures, as it is a less stressful event in all means for the patient. A point of discussion though would be the comparison of the efficacy of these techniques in the treatment of intraabdominal sepsis.

AIM: The purpose of this study is to correlate the effect in the survival either of an open laparotomy or a laparoscopy procedure in an intraperitoneal sepsis environment and to evaluate the role of MCP-1 and IL-18.

MATERIAL: 29 male Wistar rats were separated and randomized in three groups. Anesthesia was achieved by using ether, ketamine and xylazine. Intraabdominal contamination was induced with $1\text{ml} \times 10^8$ CFU *Pseudomonas aeruginosa*. Group A (n=9) was the control group in which we injected *Pseudomonas aeruginosa* intraperitoneal. In Group B (n=10) we injected the same bacterial factor and after six hours we developed pneumoperitoneum. We used 3 catheters of 18G with one being connected to a CO₂ insufflator maintaining a 0,2l/min flow of CO₂ and an intraperitoneal pressure of 5mmHg. In Group C (n=10) after the injection of the bacterial factor and the

six hours interval we performed a midline laparotomy incision. Both interventions lasted for 30 min and 30ml normal saline was used to lavage the peritoneal cavity. Vital signs, rectal temperature and weight readings were taken at 0, 6, 7, 8, 10, 12 hs and at 4 hour intervals after the 12th hour. Heart rate, respiratory rate and oxygen saturation readings were performed at (0, 6, 8 hs). Every animal that did not survive during the course of the experiment was subjected to autopsy, dissection and tissue harvesting. We harvested liver, spleen and lung tissue and conducted qualitative and quantitative bacterial cultures. Animals that survived were monitored for 144 hours and were subjected to euthanasia and tissue harvesting in order to perform bacterial cultures. Bacterial load, temperature, weight readings and hours of survival were subjected to statistical analysis using the SPSS package. The survival analysis was performed using the Kaplan-Meier formula.

Moreover the experiment was repeated with 50 additional Wistar rats from whom we obtained blood before euthanasia. Serum IL-18 and MCP-1 were evaluated between 5 groups namely the control group, the peritonitis laparoscopy, the peritonitis laparotomy and two sham peritonitis groups that were subjected to laparoscopy and laparotomy.

RESULTS: The statistical analysis of bacterial load levels between organ fragments did not reveal any statistical significant difference. The mean survival between the three groups was 9.44 ± 0.45 , 51.1 ± 19.28 and 64.12 ± 20.63 hours respectively. There was no statistical significant difference in the

survival between the three groups except between Group A and C ($p < 0.0027$). Concerning the other factors there was statistical significant difference in respiratory rate between Group A and B as well as between Group A and C and Group A and B concerning the oxygen saturation at 6 and 8 hours ($p = 0.0080$ and $p = 0.0020$) respectively.

IL-18 showed no statistically significant differences between groups. MCP-1 showed statistically significant differences between some groups but not between the peritonitis laparotomy and peritonitis laparoscopy groups.

CONCLUSIONS: According to this experimental model there is no statistical significant difference comparing laparoscopy vs open laparotomy concerning survival and visceral bacterial load. In addition, the CO₂ application has no impact in bacterial translocation. Laparotomy and laparoscopy seem to be equally effective in diagnosing and probably treating peritonitis as there were no differences noted in the overall survival and bacterial translocation. Moreover laparoscopy has distinct advantages when it comes to faster wound healing, close to zero complication rate concerning wound dehiscence, wound infection and postoperative hernias. Additionally laparoscopy is associated with less pain, a superior aesthetic result and faster recovery and return to everyday activities.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Κουράκλης, Γ. (1996) 'Παθήσεις του Περιτοναίου και του Επιπλόου', Σέχα, Μ. Χειρουργική Τόμος III, Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδη
- [2] Solomkin, S. J. et al (1999) 'Intraabdominal Infections', in Schwartz, S. (ed.), Principles of Surgery, 7th edition, New York: McGraw-Hill
- [3] Fernandez E, Lolis E (2002). "Structure, function, and inhibition of chemokines". Annu Rev Pharmacol Toxicol 42: 469–99. doi:10.1146/annurev.pharmtox.42.091901.115838. PMID 11807180
- [4] Laing K, Secombes C (2004). "Chemokines". Dev Comp Immunol 28 (5): 443–60. doi:10.1016/j.dci.2003.09.006. PMID 15062643
- [5] Wyss-Coray, Tony; Saul A. Villeda, Jian Luo, Kira I. Mosher, Bende Zou, Markus Britschgi, Gregor Bieri, Trisha M. Stan, Nina Fainberg, Zhaoqing Ding, Alexander Eggel, Kurt M. Lucin, Eva Czirr, Jeong-Soo Park, Sebastien Couillard-Després, Ludwig Aigner, Ge Li, Elaine R. Peskind, Jeffrey A. Kaye, Joseph F. Quinn, Douglas R. Galasko, Xinmin S. Xie, Thomas A. Rando (01). "The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function". Nature 477 (7362): 90–94. doi:10.1038/nature10357. PMID 21886162]
- [6] Craig Murdoch and Adam Finn (2000). "Chemokine receptors and the role in inflammation and infectious disease". Journal of the American Society of Hematology 95 (10): 3032–3043.

[7] Craig Murdoch and Adam Finn (2000). "Chemokine receptors and the role in inflammation and infectious disease". *Journal of the American Society of Hematology* 95 (10): 3032–3043.

[8] Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, and Lusso P (October 1995). "Identification of RANTES, MIP-1a, and MIP-1b as the major HIV-suppressive factor produced by CD8+ T cells". *Science* 270 (5243): 1811–1815.

[9] Alfredo Garzino-Demo, Ronald B. Moss, Joseph B. Margolick, Farley Cleghorn, Anne Sill, William A. Blattner, Fiorenza Cocchi, Dennis J. Carlo, Anthony L. DeVico, and Robert C. Gallo (October 1999). "Spontaneous and antigen-induced production of HIV-inhibitory β -chemokines are associated with AIDS-free status". *Proc Natl Acad Sci USA* 96 (21): 11986–11991.

[10] Harisson's Principles of Internal Medicine vol.1, 12th Edition, 661.

[11] Bone R. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med.*1991;115:457–469.

[12] Levi M, van der Poll T, ten Cate H, et al. The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia. *Eur J Clin Invest.* 1997;27(1):3–9.

[13] van Deventer SJ, Buller HR, ten Cate JW, et al. Experimental endotoxemia in humans: analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic, and complement pathways. *Blood.* 1990;76(12):2520–2526.

- [14] Vervloet MG, Thijs LG, Hack CE. Derangements of coagulation and fibrinolysis in critically ill patients with sepsis and septic shock. *Semin Thromb Hemost.* 1998;24(1):33–44.
- [15] Kidokoro A, Iba T, Fukunaga M, et al. Alterations in coagulation and fibrinolysis during sepsis. *Shock.* 1996;5(3):223–228.
- [16] Lorente JA, Garcia-Frade LJ, Landin L, et al. Time course of hemostatic abnormalities in sepsis and its relation to outcome. *Chest.* 1993;103(5):1536–1542.
- [17] Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood.* 2003;101(10):3765–3777.
- [18] Beal AL, Cerra FB. Multiple organ failure syndrome in the 1990s: systemic inflammatory response and organ dysfunction. *JAMA.* 1994;271(3):226–233.
- [19] McCuskey RS, Urbaschek R, Urbaschek B. The microcirculation during endotoxemia. *Cardiovasc Res.* 1996;32(4):752–763.
- [20] Papathanassoglou ED, Moynihan JA, Ackerman MH. Does programmed cell death (apoptosis) play a role in the development of

multiple organ dysfunction in critically ill patients? Crit Care Med.

2000;28(2):537–549.

[21] McWhinnie DL. The peritoneum and peritonitis. Oxford Textbook

of Surgery Edited by Peter J. Morris and Ronald A. Malt. Oxford

University Press 1995, Chapter 21.1. The Peritoneum and peritonitis.

[22] Wexler HM. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. Clin

Microbiol Rev. 2007;20(4):593–621.

[23] Sirinek KR. Diagnosis and treatment of intra-abdominal abscesses.

Surg Infect. 2000;1(1):31–38. Review. PMID: 12594907.

[24] Jaffe TA, Nelson RC, Delong DM, et al. Practice patterns in percutaneous

image-guided intra-abdominal abscess drainage: survey of

academic and private practice centers. Radiology. 2004;233(3):750–

756.

[25] Akinci D, Akhan O, Ozmen MN, et al. Percutaneous drainage of

300 intraperitoneal abscesses with long-term follow-up. Cardiovasc

Intervent Radiol. 2005;28(6):744–750.

[26] Biscione FM, Couto RC, Pedrosa TM, et al. Comparison of the risk of

surgical site infection after laparoscopic cholecystectomy and open cholecystectomy. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007;28(9):1103–1106.

[27] Scheidbach H, Ptak H, Schubert D, et al. Palliative stoma creation: comparison of laparoscopic vs conventional procedures. *Langenbecks Arch Surg.* 2007. Epub ahead of print PMID: 17690903.

[28] Schietroma M, Carlei F, Cappelli S, et al. Effects of cholecystectomy (laparoscopic versus open) on PMN-elastase. *Hepatogastroenterology.* 2007;54(74):342–345.

[29] Noblett SE, Horgan AF. A prospective case-matched comparison of clinical and financial outcomes of open versus laparoscopic colorectal resection. *Surg Endosc.* 2007;21(3):404–408.

[30] Boo YJ, Kim WB, Kim J, et al. Systemic immune response after open versus laparoscopic cholecystectomy in acute cholecystitis: a prospective randomized study. *Scand J Clin Lab Invest.* 2007;67(2):207–214.

[31] Freise H, Brückner UB, Spiegel HU. Animal models of sepsis. *J Invest*

Surg. 2001;14(4):195–212.

[32] Deitch EA. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. Shock. 1998;9:1–11.

[33] Remick DG, Newcomb DE, Bolgos GL, et al. Comparison of the mortality and inflammatory response of two models of sepsis: lipopolysaccharide versus cecal ligation and puncture. Shock. 2000;13:110–116.

[34] Zanetti G, Heumann D, Gerain J, et al. Cytokine production after intravenous or peritoneal Gram-negative bacterial challenge: comparative protective efficacy of antibodies to TNF and to LPS. J Immunol. 1992;148:1890–1897.

[35] Weinstein WM, Onderdonk AB, Bartlett JG, et al. Experimental intra-abdominal abscesses in rats: development of an experimental model. Infect Immun. 1974;10:1250–1255.

[36] Bartlett JG, Onderdonk AB, Louie T, et al. Lessons learned from an animal model of intra-abdominal sepsis. Arch Surg. 1978;113:853–857.

[37] Nichols RL, Smith JW, Balthazar ER. Peritonitis and intra-abdominal abscess: an experimental model for the evaluation of human disease.

J Surg Res. 1978;25:129-134.

[38] Hansson L, Alwmark A, Christensen P, et al. Standardized intraabdominal

abscess formation with generalized sepsis: pathophysiology

in the rat. Eur Surg Res. 1978;17:155-159.

[39] Bosscha K, Nieuwenhuijs VB, Gooszen AW, et al. A standardized

and reproducible model of intra-abdominal infection and abscess

formation in rats. Eur J Surg. 2000;166:963-967.

[40] Mathiak G, Szewczyk D, Abdullah F, et al. An improved clinical

relevant sepsis model in the conscious rat. Crit Care Med.

2000;28:1947-1952.

[41] Bryant P, Shumate M, Yumet G, et al. Capsaicin-sensitive nerves

regulate the metabolic response to abdominal sepsis. J Surg Res.

2003;112:152-161.

[42] Volk HW, Schneider J, Dammrich J, et al. Animal model for chronic

abscess-forming peritonitis: histology and pathology. Eur Surg Res.

1990;22:347–355.

[43] Ghiselli R, Giacometti A, Cirioni O, et al. Cecropin B enhances β -lactams activities in experimental rat models of gram-negative septic shock. *Ann Surg*. 2004;239:251–256.

[44] Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock: a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res*. 1980;29:189–201.

[45] Smith EF, Slivak MJ, Egan JW, et al. Fluid resuscitation improves survival of endotoxemic and septicemic rats: possible contribution of tumor necrosis factor. *Pharmacology*. 1993;46:254–267.

[46] Ebong S, Call D, Nemzek J, et al. Immunopathologic alterations in murine models of sepsis of increasing severity. *Infect Immun*. 1999;67:6603–6610.

[47] Zantl N, Uebe A, Neumann B, et al. Essential role of γ -interferon in survival of colon ascendens peritonitis, a novel murine model of abdominal sepsis. *Infect Immun*. 1998;66:2300–2309.

[48] Hanly EJ, Fuentes JM, Aurora AR, et al. Carbon dioxide pneumoperitoneum

prevents mortality from sepsis. Surg Endosc.

2006;20(9):1482–1487.

[49] Hanly EJ, Mendoza-Sagaon M, Murata K, et al. CO₂ Pneumoperitoneum modifies the inflammatory response to sepsis. Ann Surg.

2003;237(3):343–350.

[50] Matsumoto T, Dolgor B, Ninomiya K, et al. Effect of CO₂ pneumoperitoneum

on the systemic and peritoneal cytokine response in

a LPS-induced sepsis model. Eur Surg Res. 2001;33:71–76.

[51] Filho IA, Sobrinho AA, Meneses do Rego AC, et al. Influence of laparoscopy and laparotomy on gasometry, leukocytes and cytokines

in a rat abdominal sepsis model. Acta Cir. Bras. 2006;21(2):74–79.

[52] Ancel D, Barraud H, Peyrin-Biroulet L, et al. Intestinal permeability and cirrhosis. Gastroenterol Clin Biol. 2006;30(3):460–468.

[53] Ure BM, Niewold TA, Bax NM, et al. Peritoneal, systemic, and distant organ inflammatory responses are reduced by a laparoscopic approach and carbon dioxide versus air. Surg Endosc. 2002;16(5):836–

842.

- [54] Karantonis F, Mantas D, Nikiteas N, et al. A study on the survival of an experimental model with intraperitoneal sepsis undergoing laparoscopic vs open laparotomy. *Eur Surg Res.* 2007;39:1–63.
- [55] Strobel O, Wachter D, Werner J, et al. Effect of a pneumoperitoneum on systemic cytokine levels, bacterial translocation, and organ complications in a rat model of severe acute pancreatitis with infected necrosis. *Surg Endosc.* 2006;20(12):1897–1903.
- [56] Erenoglu C, Akin M, Kayaoglu H, et al. Is helium insufflation superior to carbon dioxide insufflation in bacteraemia and bacterial translocation with peritonitis? *J Laparoendosc Adv Surg Tech.* 2001;11(2):69–72.
- [57] Ozmen MM, Cönl C, Aksoy AM, et al. Effect of CO(2) insufflation on bacteraemia and bacterial translocation in an animal model of peritonitis. *Surg Endosc.* 1999;13(8):801–803.
- [58] Evasovich MR, Clark TC, Horattas MC, et al. Does pneumoperitoneum during laparoscopy increase bacterial translocation? *Surg Endosc.* 1996;10(12):1176–1179.

[59] Karayiannakis AJ, Makri GG, Mantzioka A, et al. Systemic stress response after laparoscopic or open cholecystectomy: a randomized trial. *Brit J Surg.* 1997;84(4):467– 471.

[60] Jesch NK, Vieten G, Tschernig T, et al. Mini-laparotomy and full laparotomy, but not laparoscopy, alter hepatic macrophage populations in a rat model. *Surg Endosc.* 2005;19(6):804–810.

[61] Griffith JP, Everitt NJ, Lancaster F, et al. Influence of laparoscopic and conventional cholecystectomy upon cell-mediated immunity. *Br J Surg.* 1995;82(5):677–680.

[62] Nguyen NT, Luketich JD, Schatz S, et al. Effect of open and laparoscopic surgery on cellular immunity in a swine model. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 1999;9(3):176–180.

[63] Bolla G, Tuzzato G. Immunologic postoperative competence after laparoscopy versus laparotomy. *Surg Endosc.* 2003;17:1247–1250.

[64] Bello´ n JM, Manzano L, Bernardos L, et al. Cytokine levels after open

and laparoscopic cholecystectomy. *Eur Surg Res.* 1997;29(1):27–

34.

[65] Hanly EJ, Mendoza-Sagaon M, Murata K, et al. CO₂ Pneumoperitoneum modifies the inflammatory response to sepsis. *Ann Surg.*

2003;237(3): 343–350.

[66] Targarona EM, Rodríguez M, Camacho M, et al. Immediate peritoneal response to bacterial contamination during laparoscopic

surgery. *Surg Endosc.* 2006;20(2):316–321.

[67] Balague C, Targarona EM, Pujol M, et al. Peritoneal response to a septic challenge comparison between open laparotomy, pneumoperitoneum laparoscopy, and wall lift laparoscopy. *Surg Endosc.*

1999;13:792–796.

[68] Linhares L, Jeanpierre H, Borie F, et al. Lavage by laparoscopy fares better than lavage by laparotomy: experimental evidence. *Surg Endosc.*

2001;15(1):85–89.

[69] Romeo C, Impellizzeri P, Antonuccio P, et al. Peritoneal

macrophage activity after laparoscopy or laparotomy. *J Pediatr*

Surg. 2003;38(1):97-101.

[70] Konstadoulakis MM, Gomatos IP, Antonakis PT, et al.

Two-trocar laparoscopic-assisted appendectomy versus conventional
laparoscopic appendectomy in patients with acute

appendicitis. J Laparoendosc Adv Surg Tech. A 2006 Feb;16(1):27-
32.

[71] Golash V, Willson PD. Early laparoscopy as a routine procedure
in the management of acute abdominal pain: a review of 1,320
patients. Surg Endosc. 2005;19(7):882-885.

[72] Myers E, Hurley M, O'Sullivan GC, et al. Laparoscopic peritoneal
lavage for generalized peritonitis due to perforated diverticulitis. Br
J Surg. 2008;95(1):97-101.

[73] Malangoni MA, Shumate CR, Thomas HA, et al. Factors influencing
the treatment of intra-abdominal abscesses. Am J Surg.
1990;159:167-171.

[74] Nguyen NT, Zainabadi K, Mavandadi S, et al. Trends in utilization
and outcomes of laparoscopic versus open appendectomy. Am J

Surg. 2004;188:813–820.

[75] Liu S, Siewert B, Raptopoulos V. Factors associated with conversion

to laparotomy in patients undergoing laparoscopic appendectomy.

J Am Coll Surg. 2002;194:298–305.

[76] Faranda C, Barrat C, Catheline JM, et al. Two-stage laparoscopic

management of generalized peritonitis due to perforated sigmoid

diverticula: eighteen cases. Surg Lap Endosc Percutan Tech.

2000;10:135–138.

[77] Farooq A, Ammori BJ. Laparoscopic diagnosis and management of

primary bacterial peritonitis. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.

2005;15:36–37.

[78] Ramachandran CS, Agarwal S, Goel Dip NBD, et al. Laparoscopic

surgical management of perforative peritonitis in enteric

fever. A preliminary study. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.

2004;14:122–124.

[79] Druart ML, Van Hee R, Etienne J, et al. Laparoscopic repair of

perforated duodenal ulcer. A prospective multicenter clinical trial.

Surg Endosc. 1997;11:1017–1020.

[80] Golash V, Willson PD. Early laparoscopy as a routine procedure in the management of acute abdominal pain. Surg Endosc. 2005;19:882–885.

[81] Sauerlenad S, Agresta F, Bergamaschi R, et al. Laparoscopic for abdominal emergencies: evidence based guidelines of the European Association for Endoscopic Surgery. Surg Endosc. 2006;20:14–29.

[82] Agresta F, Ciardo LF, Mazzarolo G, et al. Peritonitis: laparoscopic approach. World J Emerg Surg. 2006;24;1:9.

[83] Chalita-Manzur A, Hermosillo-Sandoval JM. Prognostic index in wound infection and abdominal sepsis. Rev Gastroenterol Mex. 2001 Jan-Mar; 66(1):6-13.

[84] Bosscha K, Reijnders K, Hulstaert PF, Algra A, van der Werken C. Prognostic scoring systems to predict outcome in peritonitis and intra-abdominal sepsis. Br J Surg. 1997 Nov; 84(11):1532-4.

[85] Kriwanek S, Armbruster C, Beckerhinn P, Dittrich K. First Surgical Department, KA Rudolfstiftung, Vienna, Austria Prognostic factors for survival in colonic perforation. Int J Colorectal Dis. 1994 Aug;9(3):158-62.

[86] Billing A, Angele M, Schildberg FW. Chirurgische Klinik, Klinikum Grosshadern, Munchen. Long-term intensive care in abdominal infect--who profits? Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd. 1996; 113:321-2.

[87] Patel RT, Deen KI, Youngs D, Warwick J, Keighley MR. Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intra-abdominal sepsis. University Department of Surgery, Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, UK. Br J Surg. 1994 Sep;81(9):1306-8.

[88] Finck ME, Elmenkouri N, Debard AL, Bohe J, Lepape A, Bienvenu J, Monneret G. Preliminary results in standardization of flow cytometry protocols for monocytic HLA-DR measurement and their application in the follow up of septic shock. Laboratoire d'immunologie et services de reanimation, CHU Lyon-Sud. AnnBiolClin(Paris).2003Jul-Aug;61(4):441-8.

[89] Echtenacher B, Urbaschek R, Weigl K, Freudenberg MA, Mannel DN. Institute for Pathology/Tumor Immunology, University of Regensburg, Regensburg, Germany. Treatment of experimental sepsis-induced immunoparalysis with TNF. Immunobiology.2003;208(4):381-9

[90]Harisson Εσωτερική Παθολογία τόμος 1, 12η Έκδοση, σελ. 661

[91]Bone RG: The pathogenesis of sepsis. Ann Intern Med 1991; 115: 457-469

[92]Harisson Εσωτερική Παθολογία τόμος 1, 12η Έκδοση, σελ. 661

[93] R. P. Dellinger Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012, Intensive Care Medicine, February 2013, Volume 39, Issue 2, pp 165-228

[94] Παπαδημητρίου Μ Εσωτερική Παθολογία 1η έκδοση σελ 107

[95] Solomon MJ, Young CJ, Eysers AA, Roberts RA. Randomized clinical trial of laparoscopic versus open abdominal rectopexy for rectal prolapse. Br J Surg. 2002 Jan; 89(1):35-9

[96] Hendolin HI, Paakonen ME, Alhava EM, Tarvainen R, Kempainen T, Lahtinen P. Laparoscopic or open cholecystectomy: a prospective randomised trial to compare postoperative pain, pulmonary function, and stress response. Eur J Surg. 2000 May ; 166(5) : 349-9

[97] Bozkurt P, Kaya G, Altintas F, Yeker Y, Hacibekiroglu M, Emir H, Sarimurat N, Tekant G, Erdogan E. Systemic stress response during operations for acute abdominal pain performed via laparoscopy or laparotomy in children. Anaesthesia. 2000Jan; 55(1):5-9

[98] Rademaker BM, Ringers J, Odoom JA, de Wit LT, Kalkman CJ, Oosting J. Pulmonary function and stress response after laparoscopic cholecystectomy: comparison with subcostal incision and influence of thoracic epidural analgesia. Anesth Analg. 1992 Sep; 75(3): 381-5

[99] Παπαδημητρίου Μ. Εσωτερική Παθολογία 1η έκδοση σελ 107- 108.

[100] Amman P, Maggiorini M, Bertel O, Haenseler E, Joller-Jemelka HI, Oechslin E, Minder EI, Rickli H, Fehr T. Troponin as a risk factor for mortality in critically ill patients without acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Jun 4;41(11):2004-9]

[101] Παπαδημητρίου Μ. Εσωτερική Παθολογία 1η έκδοση σελ 108

[102] Heemskerk AE, Huisman E, van Lambalgen AA, van den Bos GC, Thijs LG, Tangelder GJ. Laparotomy and renal function during endotoxin shock in rats. *Shock*. 1996 Dec; 6(6):410-7.

[103] Gardiner KR, Ahrendt GM, Gardiner RE, Barbul A. Failure of intestinal amino acid absorptive mechanisms in sepsis. *J Am Coll Surg*. 1995 Nov; 181(5):431-6.

[104] Gardiner KR, Gardiner RE, Barbul A. Reduced intestinal absorption of arginine during sepsis. *Crit Care Med*. 1995 Jul;23(7):1227-32.

[105] Naitoh T, Garcia-Ruiz A, Vladisavljevic A, Matsuno S, Gagner M. Gastrointestinal transit and stress response after laparoscopic vs conventional distal pancreatectomy in the canine model. *Surg Endosc*. 2002 Nov; 16(11): 1627-30. Epub 2002 Jun 20.

[106] Ahrendt GM, Tantry US, Barbul A. Intra-abdominal sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis. *Am J Surg*. 1996 Jan;171(1):102-7; discussion 107-8

[107]Ahrendt GM, Gardner K, Barbul A. Loss of colonic structural collagen impairs healing during intra-abdominal sepsis. Arch Surg. 1994 Nov;129(11):1179-83

[108] Ungerstedt J, Nowak G, Ericzon BG, Ungerstedt U. Intraperitoneal microdialysis (IPM): a new technique for monitoring intestinal ischemia studied in a porcine model. Shock. 2003 Jul;20(1):91-96].

[109] Παπαδημητρίου Μ Εσωτερική Παθολογία 1η έκδοση σελ 108.

[110]Παπαδημητρίου Μ Εσωτερική Παθολογία 1η έκδοση σελ 108.

[111] Παπαδημητρίου Μ Εσωτερική Παθολογία 1η έκδοση σελ 108.

[112] Ertel N et al “The complex patterns of cytokines in sepsis: Association between prostaglandins, cachectin, and interleukins.” Annals of Surgery 214: 141-8 (1991)

[113]Ono S, Ichikura T, Mochizuki H. The pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome and compensatory anti-inflammatory response syndrome following surgical stress. Nippon Geka Gakkai Zasshi. 2003 Jul ; 104(7): 499-505

[114] Bomford R and Henderson B (eds) Interleukin-1, inflammation and disease. Elsevier, New York 1989

[115] Fibbe WE et al The biologic activities of interleukin-1. Blut 59: 147-56 (1989)

[116]Bernton EW et al Release of multiple hormones by a direct action of interleukin 1 on pituitary cells. Science 238: 511-2 (1987)

[117]Besedovsky H et al Immunoregulatory feedback between interleukin1 and glucocorticoid hormones. Science 233: 652-4 (1986)

[118]Endres S et al Interleukin-1 in the pathogenesis of fever. European Journal of Clinical Investigation 17: 469-74 (1987)

[119]Kimura T et al Central effects of interleukin-1 on blood pressure, thermogenesis, and the release of vasopressin, ACTH, and atrial natriuretic peptide. Annals of the New York Academy of sciences 689: 330-45 (1993)

[120]Roh MS et al Direct stimulation of the adrenal cortex by interleukin 1. Surgery 102: 140-6 (1987)

[121]Suda T et al Interleukin-1 stimulates corticotrophin-releasing factor gene expression in rat hypothalamus. Endocrinology 126: 1223-8 (1990)

[122] Naitoh T, Garcia-Ruiz A, Vladisavljevic A, Matsuno S, Gagner M. Gastrointestinal transit and stress response after laparoscopic vs conventional distal pancreatectomy in the canine model. Surg Endosc. 2002 Nov; 16(11): 1627-30. Epub 2002 Jun 20.

[123] Balague C, Targarona EM, Pujol M, Filella X, Espert JJ, Trias M. Peritoneal response to a septic challenge. Comparison between open

laparotomy, pneumoperitoneum laparoscopy, and wall lift laparoscopy. Surg Endosc. 1999 Aug;13(8):792-6.

[124] Akira S et al Biology of multifunctional cytokines: IL-6 and related molecules (IL-1 and TNF) FASEB Journal 4: 2860-7 (1990)

[125] Van Snick J Interleukin 6; an overview. Annual Review of Immunology 8: 253-78 (1990)

[126] Kishimoto T The biology of interleukin-6. Blood 74: 1-10 (1990)

[127] Barkhudaryan N, Dunn AJ Molecular mechanisms of actions of interleukin-6 on the brain, with special reference to serotonin and the thalamo-pituitary-adrenocortical axis Neurochem Res.1999 Sep; 24(9): 1169-80

[128] Hermus ARMM and Sweep CGJ Cytokines and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 37: 867-71 (1990)

[129] Hermus ARMM and Sweep CGJ Cytokines and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 37: 867-71 (1990)

[130] Heinrich PC et al Interleukin-6 and the acute phase response. Biochemical Journal 269, Suppl. 51-66 (1990)

[131] Helle M et al Interleukin-6 is involved in interleukin-1 induced activities . European Journal of Immunology18: 957-9 (1988)

[132] Helle M et al Differential induction of interleukin-6 production of monocytes, endothelial cells and smooth muscle cells. Progress in Clinical Biological Research 367: 61-71 (1991)

[133] Hiramoto T Interleukin-6 and its relation to inflammation and disease. Clin. Immunology Immunopathol. 62: S60-S65 (1992)

[134] Jumming L and Vilchek J Interleukin 6: a multifunctional cytokine regulating immune reactions and the acute phase protein response.

[135] van Gool J, van Vugt H, Helle M, Aarden LA. The relation among stress, adrenalin, interleukin 6 and acute phase proteins in the rat. Clin Immunol Immunopathol.1990Nov;57(2):200-10

[136] Burpee SE, Kurian M, Murakame Y, Benevides S, Gagner M. The metabolic and immune response to laparoscopic versus open liver resection.Surg Endosc. 2002 Jun;16(6): 899-904. Epub 2002 Feb 27

[137] Balague C, Targarona EM, Pujol M, Filella X, Espert JJ, Trias M. Peritoneal response to a septic challenge. Comparison between open laparotomy, pneumoperitoneum laparoscopy, and wall lift laparoscopy. Surg Endosc. 1999 Aug;13(8):792-6.

[138] Bozkurt P, Kaya G, Altintas F, Yeker Y, Hacibekiroglu M, Emir H, Sarimurat N, Tekant G, Erdogan E. Systemic stress response during operations for acute abdominal pain performed via laparoscopy or laparotomy in children. Anaesthesia. 2000Jan; 55(1):5-9

- [139] Nishiguchi K, Okuda J, Toyoda M, Tanaka K, Tanigawa N. Comparative evaluation of surgical stress of laparoscopic and open surgeries for colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum*. 2001 Feb; 44(2): 223-30
- [140] Karayiannakis AJ, Makri GG, Mantzioka A, Karousos D, Karatzas G. Systemic stress response after laparoscopic or open cholecystectomy: a randomized trial. *Br J Surg*. 1997 Apr; 84(4):467-71
- [141] Kristiansson M, Saraste L, Soop M, Sundqvist KG, Thorne A. Diminished interleukin-6 and C-reactive protein responses to laparoscopic versus open cholecystectomy. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1999 Feb; 43(2):146-52
- [142] Aggarwal BB and Vilchek J (eds) Tumor necrosis factor: structure, function, and mechanism of action. Marcel Dekker Inc. 1992
- [143] Bonavida B Immunomodulatory effect of tumor necrosis factor. *Biotherapy* 3: 127-33 (1991)
- [144] Brouckaert P et al Tumor necrosis factor, its receptors and the connection with interleukin 1 and interleukin 6. *Immunobiology* 187: 317-29 (1993)
- [145] Jacobi CA, Ordemann J, Zieren HU, Volk HD, Bauhofer A, Halle E, Muller JM. Increased systemic inflammation after laparotomy vs. laparoscopy in an animal model of peritonitis. *Arch Surg*. 1998 Mar; 133(3):258-62.
- [146] Balague C, Targarona EM, Pujol M, Filella X, Espert JJ, Trias M. Peritoneal response to a septic challenge. Comparison between open

laparotomy, pneumoperitoneum laparoscopy, and wall lift laparoscopy. Surg Endosc. 1999 Aug;13(8):792-6.

[147] Burpee SE, Kurian M, Murakame Y, Benevides S, Gagner M. The metabolic and immune response to laparoscopic versus open liver resection. Surg Endosc. 2002 Jun;16(6): 899-904.

[148] de Waal-Malefyt R et al Interleukin 10. Current Opinion in Immunology 4: 314-20 (1992)

[149] Howard M and O'Garra A Biological properties of interleukin 10 Immunology Today 13: 198-200 (1992)

[150] Howard M et al Biological properties of interleukin 10. Journal of Clin. Immunology 12: 239-47 (1992)

[151] Quesniaux VF Interleukins 9, 10, 11 and 12 and kit ligand: a brief overview. Research Immunology 143: 385-400 (1992)

[152] Spits H and de Waal-Malefyt R Functional characterization of human IL10. International Archives of Allergy and Immunology 99: 8-15 (1992)

[153] Zlotnik A and Moore KW Interleukin 10. Cytokines 3: 366-71 (1991)

[154] Hsu DH et al Expression of IL10 activity by Epstein-Barr virus protein BCRF1. Science 250: 830-2 (1990)

[155] Kim JM et al Structure of the mouse IL10 gene and chromosomal localization of the mouse and human genes. *Journal of Immunology* 148: 3618-23 (1992)

[156] Moore KW et al Evolving principles in immunopathology: Interleukin 10 and its relationship to Epstein-Barr virus protein BCRF1. *Springer Semin. Immunopathol.* 13: 157-66 (1991)

[157] Mosmann TR Isolation of MAbs specific for IL4, IL5, and IL6, and a new Th2-specific cytokine, cytokine synthesis inhibitory factor (CSIF, IL10), using a solid phase radioimmunoabsorbent assay: blocking and non-blocking anti-CSIF MAbs. *Journal of Immunology* 145: 2938-45 (1990)

[158] Vieira P et al Isolation and expression of human cytokine synthesis inhibitory factor cDNA clones: homology to Epstein-Barr virus open reading frame BCRF1. *Proceedings of the National Academy of Science (USA)* 88: 1172-6 (1991)

[159] Windsor WT et al Disulfide bond assignments and secondary structure analysis of human and murine interleukin 10. *Biochemistry* 32: 8807-15 (1993)

[160] Yssel H et al IL10 is produced by subsets of human CD4 + T cell clones and peripheral blood T cells. *Journal of Immunology* 149: 2378-84 (1992)

[161] Suk Yue Ho A et al A receptor for interleukin 10 is related to interferon receptors. *Proceedings of the National Academy of Science (USA)* 90: 11267-71 (1993)

[162] Tan JC et al Characterization of interleukin-10 receptors on human and mouse cells. *Journal of Biological Chemistry* 268: 21053-9 (1993)

[163] Benjamin D et al Human B cell interleukin-10: B cell lines derived from patients with acquired immunodeficiency syndrome and Burkitt's lymphoma constitutively secrete large quantities of interleukin-10. *Blood* 80: 1289-98 (1992)

[164] Bogdan C et al Macrophage deactivation by interleukin 10. *Journal of Experimental Medicine* 174: 1549-55 (1991)

[165] Bogdan C et al Contrasting mechanisms for suppression of macrophage cytokine release by transforming growth factor-beta and interleukin-10. *Journal of Biological Chemistry* 267: 23301-8 (1992)

[166] Chen WF and Zlotnik A IL10: a novel cytotoxic T cell differentiation factor. *Journal of Immunology* 147: 528-34 (1991)

[167] Chomarat P et al Interferon gamma inhibits interleukin 10 production by monocytes. *Journal of Experimental Medicine* 177: 523-7 (1993)

[168] D'Andrea A et al Interleukin 10 (IL10) inhibits human lymphocyte interferon γ production by suppressing natural killer cell stimulatory factor/IL12 synthesis in accessory cells. *Journal of Experimental Medicine* 178: 1041-8 (1993)

[169] Defrance T et al Interleukin 10 and transforming growth factor beta cooperate to induce anti-CD40-activated naive human B cells to secrete immunoglobulin A. *Journal of Experimental Medicine* 175: 671-82 (1992)

[170] Del-Prete G et al Human IL10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *Journal of Immunology* 150: 353-60 (1993)

[171] De Waal Malefyt R et al Interleukin 10 (IL10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: An autoregulatory role of IL10 produced by monocytes. *Journal of Experimental Medicine* 174: 1209-20 (1991)

[172] De Waal Malefyt R et al Interleukin 10 (IL10) and viral IL10 strongly reduce antigen-specific human T cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major histocompatibility complex expression. *Journal of Experimental Medicine* 174: 915-24 (1991)

[174] Emelie D et al In vivo production of interleukin-10 by malignant cells in AIDS lymphomas. *European Journal of Immunology* 22: 2937-42 (1992)

[175] Enk AH and Katz SI Identification and induction of keratinocyte-derived interleukin 10. *Journal of Immunology* 149: 92-95 (1992)

[176] Fiorentino DF et al A. IL10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *Journal of Immunology* 146: 3444-51 (1991)

[177] Gerard C et al Interleukin 10 reduces the release of tumor necrosis factor and prevents lethality in experimental endotoxemia. *Journal of Experimental Medicine* 177: 547-50 (1993)

[178] Go N et al Interleukin 10, a novel B cell stimulatory factor: unresponsiveness of X chromosome-linked immunodeficiency B cells. *Journal of Experimental Medicine* 172: 1625-31 (1990)

[179] Hsu DH et al Differential effects of IL4 and IL10 on IL2-induced IFN-gamma synthesis and lymphokine-activated killer activity *International Immunology* 4: 563-9 (1992)

[180] Ishida H et al Continuous anti-interleukin 10 antibody administration depletes mice of Ly-1 B cells but not conventional B cells. *Journal of Experimental Medicine* 175: 1213-20 (1992)

[181] Jinqun T et al Human IL10 is a chemoattractant for CD8 + T lymphocytes and an inhibitor of IL9-induced CD4 + T lymphocyte migration. *Journal of Immunology* 151: 4545-51 (1993)

[182] Miyazaki I et al Viral interleukin 10 is critical for the induction of B cell growth transformation by Epstein-Barr virus. *Journal of Experimental Medicine* 178: 439-47 (1993)

[183] Mosmann TR Role of a new cytokine, interleukin-10, in the cross-regulation of T helper cells. *Annals of the New York Academy of Sciences* 628: 337-44 (1991)

[184] Niiro H et al Epstein-Barr virus BCRF1 gene product (viral interleukin 10) inhibits superoxide anion production by human monocytes. Lymphokine Cytokine Research 11: 209-14 (1992)

[185] O'Garra A et al Production of cytokines by mouse B cells: B lymphomas and normal B cells produce interleukin 10 International Immunology 2: 821-32 (1990)

[186] O'Garra A et al Ly-1 B (B-1) cells are the main source of B cell-derived interleukin 10. European Journal of Immunology 22: 711-7 (1992)

[187] Pecanha LM et al Lymphokine control of type 2 antigen response. IL10 inhibits IL5- but not IL2-induced Ig secretion by T cell-independent antigens. Journal of Immunology 148: 3427-32 (1992)

[188] Pecanha LM et al IL10 inhibits T cell-independent but not T cell-dependent responses in vitro. Journal of Immunology 150: 3215-23 (1993)

[189] Ralph P et al IL10, T lymphocyte inhibitor of human blood cell production of IL-1 and tumor necrosis factor. Journal of Immunology 148: 808-14 (1992)

[190] Rousset F et al Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. Proceedings of the National Academy of Science (USA) 89: 1890-3 (1992)

[191] Schlaak JF et al Differential effects of IL10 on proliferation and cytokine production of human gamma/delta and alpha/beta T cells. Scandinavian Journal of Immunology 39: 209-15 (1994)

[192] Stewart JP et al The interleukin-10 homologue encoded by Epstein-Barr virus enhances the reactivation of virus-specific cytotoxic T cell and HLA-unrestricted killer cell responses. Virology 191: 773-82 (1992)

[193] Street NE and Mosmann TR Functional diversity of T lymphocytes due to secretion of different cytokine patterns. FASEB Journal 5: 171-7 (1991)

[194] Taga K and Tosato G IL10 inhibits human T cell proliferation and IL2 production. Journal of Immunology 148: 1143-8 (1992)

[195] Thompson-Snipes LA et al Interleukin 10: a novel stimulatory factor for mast cells and their progenitors. Journal of Experimental Medicine 173: 507-10 (1991)

[196] Chang CK, Zdon MJ. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha and inducible nitric oxide synthase correlates with the induction of IL-10 in septic rats undergoing laparotomy and laparoscopy. Department of Surgery, Mount Sinai Hospital Medical Center. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech. 2002 Aug ; 12(4) : 247-251

[197] Quesniaux VF Interleukins 9,10,11 and 12 and kit ligand: a brief overview. Research Immunology 143: 385-400 (1992)

[198] Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Savva A, Polychronidis A, Karatzas G, Simopoulos C. Serum E-cadherin concentrations and their response during laparoscopic and open cholecystectomy. *Surg Endosc*. 2002 Nov; 16(11): 1551-4.

[199] Chrousos GP: The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med* 1995; 332: 1351-1362

[200] Friedrich M, Rixecker D, Friedrich G. Evaluation of stress-related hormones after surgery. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 1999; 26(2): 71-5

[201] 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 Apr 15; 9(4): 847-850

[202] Muzii L, Marana R, Marana E, Paielli FV, Meo F, Maussier ML, Sciarra M, Mancuso S. Evaluation of stress-related hormones after surgery by laparoscopy or laparotomy. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 1996 Feb; 3(2):229-34

[203] Karayiannakis AJ, Makri GG, Mantzioka A, Karousos D, Karatzas G. Systemic stress response after laparoscopic or open cholecystectomy: a randomized trial *Br J Surg*. 1997 Apr; 84(4):467-71

[204] Uzunkoy A, Coskun A, Akinci OF, Kocyigit A. Systemic stress responses after laparoscopic or open hernia repair. *Eur J Surg*. 2000 Jun ; 166(6) :467-71

[205] Yuen PM, Mak TW, Yim SF, Kee WD, Lam CW, Rogers MS, Chang AM. Metabolic and inflammatory responses after laparoscopic and abdominal hysterectomy. *Am J Obstet Gynecol*. 1998 Jul; 179(1): 1-5

[206] Agnifili A, Ibi I, Guadagni S, Verzaro R, Gianfelice F, Mancini E, De Bernardinis G, Silvi B, Leonardi F. Perioperative pain and stress: a comparison between video laparoscopic cholecystectomy and "open" cholecystectomy. *G. Chir*. 1993 Sep; 14(7):344-8

[207] Schauer PR, Sirinek KR. The laparoscopic approach reduces the endocrine response to elective cholecystectomy. *Am Surg*. 1995 Feb; 61(2): 106-11

[208] Ugarte H, Silva E, Mercan D, De Mendonca A, Vincent JL: Procalcitonin used as marker of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 1999, 27:498-504

[209] Yi-Ling Chan, Ching-Ping Tseng, Pei-Kuei Tsay, Shy-Shin Chang, Te-Fa Chiu and Jih-Chang Chen. Procalcitonin as a marker of bacterial infection in the emergency department: an observational study, *Critical Care* 2004, 8: R12-R20

[210] Riche FC, Cholley BP, Laisne MJ, Vicaut E, Panis YH, Lajeunie EJ, Boudiaf M, Valleur PD. Inflammatory cytokines, C reactive protein, and procalcitonin as early predictors of necrosis infection in acute necrotizing pancreatitis. *Surgery*. 2003 Mar; 133(3):257-62.

[211] Kushner I. Hosp Pract 1990;25:13-28

[212] Polat C, Kahraman A, Yilmaz S, Koken T, Serteser M, Akbulut G, Arikan Y, Dilek ON, Gokce O. A comparison of the oxidative stress response and antioxidant capacity of open and laparoscopic hernia repairs. J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech. A. 2003 Jun; 13(3): 167-173

[213] Zengin K, Taskin M, Sakoglu N, Salihoglu Z, Demiroglu S, Uzun H. Systemic inflammatory response after laparoscopic and open application of adjustable banding for morbidly obese patients. Obes surg. 2002 Apr; 12(2): 276-9

[214] Seven R, Seven A, Erbil Y, Mercan S, Burcak G. Lipid peroxidation and antioxidant state after laparoscopic and open cholecystectomy. Eur J Surg 1999 Sep; 165(9): 871-4

[215] Uzunkoy A, Coskun A, Akinci OF, Kocyigit A. Systemic stress responses after laparoscopic or open hernia repair. Eur J Surg. 2000 Jun ; 166(6) :467-71

[216] Seven R, Seven A, Erbil Y, Mercan S, Burcak G. Lipid peroxidation and antioxidant state after laparoscopic and open cholecystectomy. Eur J Surg 1999 Sep; 165(9): 871-4

[217] Zengin K, Taskin M, Sakoglu N, Salihoglu Z, Demiroglu S, Uzun H. Systemic inflammatory response after laparoscopic and open application of

adjustable banding for morbidly obese patients. *Obes surg.* 2002 Apr;12(2):276-

9

[218] Uzunkoy A, Coskun A, Akinci OF, Kocyigit A. Systemic stress responses after laparoscopic or open hernia repair. *Eur J Surg.* 2000 Jun ; 166(6) :467-71

[219] Danks DM : Disorders of copper transport. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds.). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. New York, McGraw-Hill, 1995.

[220] Tomohisa et al *Kurume Medical Journal*, 1998 ;45: 69-73]

[221] Παπαδημητρίου Μ Εσωτερική Παθολογία 1η έκδοση σελ 108.

[222] Dahlback B Inherited thrombophilia : Resistance to activated protein C as a pathogenetic factor of venous thromboembolism. *Blood* 1995; 85: 607-614.

[223] Chapital AD, Hendrick SR, Lloyd L, Pieper D. The effects of triiodothyronine augmentation on antithrombin III levels in sepsis. *Am Surg.* 2001 Mar; 67(3):253-5; discussion 255-6.

[224] Nguyen NT, Luketich JD, Shurin MR, Schatz S, Tran Q, Ravid J,

Schauer PR. Coagulation modifications after laparoscopic and open

cholecystectomy in a swine model.

Surg Endosc. 1998 Jul; 12(7): 973-8

[225]Vander Velpen G, Penninckx F, Kerremans R, Van Damme J, Arnout J. Interleukin-6 and coagulation-fibrinolysis fluctuations after laparoscopic and conventional cholecystectomy. Surg Endosc. 1994 Oct;8(10): 1216-20.

[226] Methot N, Huang J, Coulombe N, Vaillancourt JP, Rasper D, Tam J, Han Y, Colucci J, Zamboni R, Xanthoudakis S, Toulmond S, Nicholson DW, Roy S. Differential Efficacy of Caspase Inhibitors on Apoptosis Markers during Sepsis in Rats and Implication for Fractional Inhibition Requirements for Therapeutics. J Exp Med. 2004 Jan 19; 199(2):199-207.

[227] Coopersmith CM, Chang KC, Swanson PE, Tinsley KW, Stromberg PE, Buchman TG, Karl IE, Hotchkiss RS.

Overexpression of Bcl-2 in the intestinal epithelium improves survival in septic mice. Crit Care Med. 2002 Jan; 30(1):195-201.

[228] Sedlak TW et al, Multiple Bcl-2 family members demonstrate selective dimerizations with Bax. Proceedings of the National Academy of Science (USA) 92(17):7834-7838 (1995)

[229] Vekrellis K et al. Bax promotes neuronal cell death and is downregulated during the development of the nervous system. Development 124(6):1239-1249 (1997).

[230] Sedlak TW et al, Multiple Bcl-2 family members demonstrate selective dimerizations with Bax. Proceedings of the National Academy of Science (USA) 92(17):7834-7838 (1995)

[231]Herberg JA et al. Genomic structure and domain organization of the human Bak gene. Gene 211(1):87-94 (1998)

[232] Ning N, Xia SY, Ma B, Li R, DU XH. Application of laparoscopic technique in acute abdomen of gastrointestinal surgery. Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi. 2013 Oct;16(10):960-2.

[233] Navez B, Navez J.Laparoscopy in the acute abdomen. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2014 Feb;28(1):3-17. doi: 10.1016/j.bpg.2013.11.006.

[234] Gracie JA, Robertson SE, McInnes IB. **Interleukin-18**. J Leukoc Biol.2003 Feb;73(2):213-24.

[235] Satish L. Deshmane, Sergey Kremlev, Shohreh Amini, Bassel E. Sawaya. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview Journal of Interferon & Cytokine Research. J Interferon Cytokine Res. Jun 2009; 29(6): 313-326.