



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
——— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 ———

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ- ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΕΚ ΤΗΣ Γ' ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΤΟΥ Π.Γ.Ν. "ΑΤΤΙΚΟΝ"

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΠΙΚΟΥΛΗΣ

**Η μελέτη της επίδρασης των προβιοτικών, πρεβιοτικών,
συμβιοτικών στον εντερικό βλεννογόνο και στον εντερικό
βλεννογονικό φραγμό κατά το σύνδρομο του βραχέος
εντέρου σε επίμυες**

ΧΡΗΣΤΟΣ Ν. ΣΤΟΪΔΗΣ

Πλαστικός Χειρουργός

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ, 2019

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ- ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΕΚ ΤΗΣ Γ' ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΤΟΥ Π.Γ.Ν. "ΑΤΤΙΚΟΝ"

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΠΙΚΟΥΛΗΣ

**Η μελέτη της επίδρασης των προβιοτικών, πρεβιοτικών,
συμβιοτικών στον εντερικό βλεννογόνο και στον εντερικό
βλεννογονικό φραγμό κατά το σύνδρομο του βραχέος
εντέρου σε επίμυες**

ΧΡΗΣΤΟΣ Ν. ΣΤΟΪΔΗΣ

Πλαστικός Χειρουργός

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ, 2019

Ημερομηνία υποβολής αιτήσεως Υποψηφίου Διδάκτορα: **28-12-2007**

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής επιτροπής: **20-02-2008**

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κωνσταντίνος Φωτιάδης, Επιβλέπον μέλος,

Αναπλ. Καθηγητής Χειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Γαβριήλ Καρατζάς, Καθηγητής Χειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Πάυλος Πατάπης, Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Ημερομηνία ορισμού του Θέματος: **19-05-2008**

Ημερομηνία έγκρισης του Θέματος και έναρξης διατριβής: 11-06-2008

Ημερομηνία υποβολής 1ης έκθεσης προόδου: 30-04-2009

Ημερομηνία υποβολής 2ης έκθεσης προόδου: 27-08-2010

Ημερομηνία υποβολής 3ης έκθεσης προόδου: 13-07-2011

Ημερομηνία αντικατάστασης επιβλέποντος μέλους τριμελούς: **30-11-2018**,

Αρ. Πρωτ.: 1819012926

Η ΝΕΑ ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Πάυλος Πατάπης, Επιβλέπον μέλος,

Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής Ε.Κ.Π.Α

Γαβριήλ Καρατζάς, Ομότιμος Καθηγητής Χειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Ευάγγελος Μισιακός, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Ημερομηνία ορισμού Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής: **24-01-2019**

Ημερομηνία παρουσίασης διδακτορικής διατριβής: **7-3-2019**

Ο ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΚΠΑ

Πέτρος Π. Σφηκάκης, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Η ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Παύλος Πατάπης,

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΚΠΑ

Γαβριήλ Καρατζάς,

ΟΜΟΤΙΜΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΚΠΑ

Εμμανουήλ Πικουλής,

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΚΠΑ

Ευάγγελος Μισιακός,

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΚΠΑ

Νικόλαος Ζάβρας,

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΙΔΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΚΠΑ

Ανέστης Χαραλαμπίδης,

ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΚΠΑ

Κωνσταντίνος Νάστος,

ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΚΠΑ

Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΗΘΗΚΕ ΜΕ :

“Άριστα”

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ὁμνυμι Ἀπάλλωνι ἡγερὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἱστορας ποιέμενος, ἐπιτελέα ποιήσων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὅρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε, ἡγήσασθαι 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 διδάξεν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελῆς τε καὶ ἀκροήσεως καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσεως μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσι τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοις τε καὶ ὠρκασμένοις νόμῳ ἡτρικῷ, ἄλλω δὲ οὐδενί. Διατηρήμασί τε χρῆσθαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίᾳ εἶρξεν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑψηγήσομαι ξυμβουλὴν τοιήδε, ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνώως δὲ καὶ ὁσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμὴν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξις τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὁκόσας ἂν εἰσω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἑὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθοράς, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμαμάτων καὶ ἀνδράων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ ὃ ἂν ἐν θεραπείῃ ἦ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἡγέμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποίεοντι, καὶ μὴ ξυγχέοντι, εἴη ἐπαίρασθαι καὶ βίον καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰὲ χρόνον, παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιορκοῦντι, τὰ ναντία τουτέων

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Ονομάζομαι Χρήστος Στοΐδης του Νικολάου και γεννήθηκα στη Θεσσαλονίκη στις 22 Αυγούστου 1980. Αποφοίτησα το 1998 από το Λύκειο Ηλιούπολης Θεσσαλονίκης με βαθμό «Λίαν Καλώς». Εισήχθην το 1999 κατόπιν πανελληνίων εξετάσεων στο Ιατρικό Τμήμα της Στρατιωτικής Σχολής Αξιωματικών Σωμάτων (ΣΣΑΣ). Το 2005 αποφοίτησα από το τμήμα Ιατρικής του ΑΠΘ με βαθμό «Λίαν Καλώς» και τον ίδιο χρόνο αποφοίτησα από τη ΣΣΑΣ και ορκίστηκα Αξιωματικός του Πολεμικού Ναυτικού, στις τάξεις του οποίου υπηρετώ έως και σήμερα.

Το 2006 έλαβα την άδεια άσκησης επαγγέλματος από τη Νομαρχία Αθηνών. Διαθέτω επίσης από το 2011 άδεια άσκησης επαγγέλματος στη Γερμανία (Approbation als Arzt), καθώς και για το 2012 στην Αγγλία (Certificate of Full Registration as a Medical Practitioner, GMC, London).

Προ ενάρξεως ειδικότητας και έως το 2008 εκπαιδεύτηκα ως εσωτερικός βοηθός σε διάφορες κλινικές του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών και συμμετείχα σε πληθώρα ειρηνευτικών αποστολών στο εξωτερικό ως Ιατρός Πληρώματος Πολεμικού πλοίου.

Στο γενικό μέρος της ειδικότητας εκπαιδεύτηκα για 2 έτη στην κλινική Γενικής Χειρουργικής του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών, ενώ στο ειδικό μέρος και για 4 έτη στην κλινική Πλαστικής Χειρουργικής- Λάτσειο Κέντρο Εγκαυμάτων του Θριάσιου Νοσοκομείου, καθώς και στη Γερμανία. Το 2015 έλαβα κατόπιν εξετάσεων τον τίτλο ειδικότητας της Πλαστικής Χειρουργικής.

Έχω πιστοποιηθεί σε πληθώρα σεμιναρίων με πρακτική άσκηση επείγουσας ιατρικής, χειρουργικής και πλαστικής χειρουργικής (BLS, ACLS, ATLS, DSTC, ABLIS, Καταδυτικής και Υπερβαρικής Ιατρικής, Μικροχειρουργικής, Χειρουργικής

Άκρας Χειρός, Κρανιοπροσωπικής χειρουργικής, Αποκατάστασης μαστού, Χειρουργικής Ανατομικής κ.ά.). Σε πειραματικό επίπεδο ασχολήθηκα ενεργά σε σειρά πρωτοκόλλων με θέμα τη μελέτη της μετακτινικής εντερίτιδας, της γαστρικής παράκαμψης, της καρκινογένεσης και του συνδρόμου βραχέος εντέρου σε επίμυες στο Πειραματικό Εργαστήριο του ΠΓΝ “Αττικών”, καθώς και σε κλινικοανατομικές μελέτες στο Ιατροδικαστικό Εργαστήριο και στο Ανατομείο πάνω στη μελέτη κρημνών και χειρουργικής ανατομίας.

Στο πλαίσιο της συνεχιζόμενης ιατρικής εκπαίδευσης συμμετείχα ενεργά σε πάνω από 20 διεθνή και εγχώρια συνέδρια επείγουσας ιατρικής, ογκολογίας, χειρουργικής και πλαστικής χειρουργικής, με πάνω από 30 προφορικές, αναρτημένες ή κατόπιν πρόσκλησης ανακοινώσεις, λαμβάνοντας 3 συνολικά βραβεύσεις.

Από την ενασχόλησή μου σε κλινικό και πειραματικό επίπεδο με ενδιαφέροντα περιστατικά προέκυψαν 14 συνολικά δημοσιεύσεις στη διεθνή βάση δεδομένων PubMed/Medline (πρωτότυπες εργασίες, ανασκοπήσεις, αναφορές περιστατικών), εκ των οποίων προέκυψαν σύμφωνα με το Scopus και το ISI μέχρι στιγμής 405 αναφορές (h-index 9), ενώ ο συνολικός συντελεστής απήχησης (Impact factor) υπολογίζεται σε 16,837.

Είμαι μέλος του Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών, της Εταιρίας Πλαστικής Χειρουργικής, κάτοχος του Ευρωπαϊκού τίτλου Πλαστικής, Επανορθωτικής και Αισθητικής Χειρουργικής (FEBOPRAS), καθώς και Μεταπτυχιακού Τίτλου Ειδίκευσης (MSc) στη Βιοστατιστική από το ΕΚΠΑ.

Μιλώ Αγγλικά και Γερμανικά σε άριστο επίπεδο, ενώ έχω προχωρημένες γνώσεις ηλεκτρονικού υπολογιστή, διαχείρισης δεδομένων και στατιστικών πακέτων.

Κατά την παρούσα εργάζομαι ως επιμελητής στο Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών.

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ

Ο συγγραφέας δηλώνει υπεύθυνα ότι η παρούσα διδακτορική διατριβή δεν αποτελεί
κατά το όλον ή κατά μέρος προϊόν λογοκλοπής.

Η παρούσα πειραματική μελέτη χρηματοδοτήθηκε εξ' ολοκλήρου από τον Ειδικό
Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΛΚΕ-ΕΚΠΑ) με
Αρ. Πρωτοκόλλου: 70/4/8183.

Η μεθοδολογία και μέρος των αποτελεσμάτων της παρούσας ερευνητικής μελέτης
παρουσιάστηκαν σε δημόσια διάλεξη στο πλαίσιο του Διατμηματικού
Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών ΕΚΠΑ 'Βιοστατιστική'.

Η έγκρισις διδακτορικής διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου
Αθηνών δέν υποδηλοῖ ἀποδοχήν τῶν γνώμων τοῦ συγγραφέως. (Όργανισμός
Πανεπιστημίου Αθηνών, άρθρον 202 § 2, τοῦ Νόμου 5343)

ΑΦΙΕΡΩΝΕΤΑΙ

*Στους πολυαγαπημένους μου γονείς,
την οικογένεια, τους φίλους και τους συναδέλφους
για την έμπρακτη στήριξή τους στη δημιουργία αυτού του πονήματος.*

Στους διδασκάλους μου

ΜΕ ΕΥΓΝΩΜΟΣΥΝΗ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στους τ.Διευθυντές της Γ' Χειρουργικής Κλινικής του ΠΓΝ 'Αττικόν' Ομότιμους Καθηγητές Χειρουργικής ΕΚΠΑ κ.κ. Γαβριήλ Καρατζά και Αναστάσιο Μαχαίρα, τον Ομότιμο Καθηγητή Χειρουργικής ΕΚΠΑ κο Κωνσταντίνο Φωτιάδη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής ΕΚΠΑ κο Παύλο Πατάπη για την εμπιστοσύνη και αμέριστη υποστήριξη της μελέτης. Στον Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής ΕΚΠΑ κο Ευάγγελο Μισιακό για την πρωτοπόρα πορεία του πάνω στην έρευνα του συνδρόμου βραχέος εντέρου.

Στο Διευθυντή, Καθηγητή Παθολογίας ΕΚΠΑ κο Ευάγγελο Γιαμαρέλλο-Μπουρμπούλη και το Προσωπικό του Πειραματικού Εργαστηρίου του ΠΓΝ 'Αττικόν' για τη φιλοξενία στους χώρους του Εργαστηρίου και την έμπρακτη στήριξη και βοήθεια στην επεξεργασία των δειγμάτων ιστών και αίματος.

Στο Διευθυντή κο Ανδρέα Καραμέρη και το Προσωπικό του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του 417 ΝΙΜΤΣ και τον Κυτταρολόγο κο Ευάγγελο Τσιάμπα για τη βοήθεια στην παρασκευή, επεξεργασία και ανάλυση των ιστολογικών δειγμάτων με τεχνολογία αιχμής.

Στον κο Βασίλειο Σπυρόπουλο, Χειρουργό για την εξαιρετη συνεργασία μας κατά τη διάρκεια εκτέλεσης των πειραμάτων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
ΣΚΟΠΟΣ	16
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΒΡΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ	19
1.1. Περίληψη	19
1.2. Εισαγωγικά	19
1.3. Ορισμός	21
1.4. Αιτιολογία	22
1.5. Παθοφυσιολογία	24
1.6. Η φυσιολογική διεργασία της εντερικής προσαρμογής	31
1.7. Κλινική Εικόνα και Διάγνωση	32
1.8. Μη Χειρουργική Αντιμετώπιση	33
1.9. Συμπεράσματα	48
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΔΥΝΗΤΙΚΑ ΟΦΕΛΗ ΤΩΝ ΠΡΟ- ΚΑΙ ΠΡΕΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΤΟΝ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΦΡΑΓΜΟ ΣΤΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΤΟΥ ΒΡΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ.....	52
2.1. Περίληψη	52
2.2. Εισαγωγικά	53
2.3. Σύνδρομο Βραχέος Εντέρου	55
2.4. Αλληλεπίδραση εντερικού φραγμού- Βακτηριακής Αλλόθεσης	60
2.5. Συμ- Πρε- Προβιοτικά	63
2.6. Πειραματικές μελέτες σε Ζωικά Πρότυπα	67
2.7. Κλινικές Μελέτες	70
2.8. Συμπεράσματα	76

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	79
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ	80
3.1. Έγκριση πρωτοκόλλου	80
3.2. Ζωικά Πρότυπα	80
3.3. Δίαιτα	81
3.4. Πειραματικό Πρωτόκολλο	82
3.5. Εγχειρητική διαδικασία	84
3.6. Μέθοδος ευθανασίας- Συλλογή δειγμάτων- Αντικείμενα έρευνας	84
3.7. Ανάλυση βακτηριακής αλλόθεσης	85
3.8. Ανάλυση ύψους λαχών- Λεμφοκυτταρικής διήθησης βλεννογόνου λεπτού εντέρου	86
3.9. Ανάλυση απόπτωσης	86
3.10. Ανάλυση λιποπολυσακχαριτών	88
3.11. Στατιστική ανάλυση	89
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	97
4.1. Επιβίωση και διαφοροποιήσεις βάρους	97
4.2. Βακτηριακή αλλόθεση	101
4.3. Ύψος λαχών- Βλεννογόνια λεμφοκυτταρική διήθηση	106
4.4. Απόπτωση	110
4.5. Συγκεντρώσεις του λιποπολυσακχαρίτη στον ορό αίματος	121
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	125
5.1 Συζήτηση	125
5.2. Συμπεράσματα	130
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	132
6.1. Αναγνώριση Προσφοράς	132

6.2. Δήλωση Σύγκρουσης Συμφερόντων	132
6.3. Συμμόρφωση με τους κανόνες Ηθικής και Δεοντολογίας	132
6.4. Συντμήσεις (αλφαβητικά)	133
6.5. Κατάλογος Πινάκων	134
6.6. Κατάλογος Γραφημάτων	136
6.7. Κατάλογος Εικόνων	137
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	138
SUMMARY	140
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	142

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι μηχανισμοί διαταραχής της λειτουργίας του εντερικού φραγμού σε ασθενείς με σύνδρομο βραχέος εντέρου (ΣΒΕ) είναι γενικώς ελάχιστα κατανοητοί. Η μείωση της εντερικής κινητικότητας που οδηγεί σε βακτηριακή υπερανάπτυξη, η μείωση του σχετιζόμενου με το έντερο λεμφικού ιστού μετά την απώλεια σημαντικού τμήματος του εντέρου, η αναστολή της επιθηλιακής ανοσίας του λεπτού εντέρου μετά τη χορήγηση ενδοφλέβιας ολικής παρεντερικής διατροφής, καθώς και οι μεταβολές στην εντερική διαπερατότητα σε μακρομόρια έχουν προταθεί ως κύριοι παράγοντες πρόκλησης αυτής της διαταραχής (*Misiakos et al, 2007*).

Αρκετές θεραπευτικές στρατηγικές έχουν προταθεί για την πρόληψη της εγκατάστασης και τη βελτίωση της πρόγνωσης της δυσίας αυτής νόσου (*Efsen et al, 2011*). Μεταξύ αυτών, η χρήση διατροφικών συμπληρωμάτων όπως τα πρε- και προβιοτικά ανήκουν στις τελευταίες θεραπευτικές δυνατότητες (*Stoidis et al, 2011*). Η συνδυαστική θεραπεία προβιοτικών και πρεβιοτικών ονομάζεται συμβιοτική θεραπεία και αναμένεται να εμφανίζει ισχυρότερη δράση στις εντερικές νόσους, από ότι τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά από μόνα τους (*Sukhotnik et al, 2008; Kolida et al, 2011*). Είναι ήδη γνωστό για τα προβιοτικά ότι είναι πολύ αποτελεσματικά στον εντερικό σωλήνα και ιδιαίτερα στο κόλον, καθώς διατηρούν υγιή την εντερική μικροχλωρίδα και επηρεάζουν θετικά τους μεταβολικούς, διαιτητικούς και ανοσολογικούς μηχανισμούς (*Uchida et al, 2007*).

Πέρα από τις περιορισμένες πρόσφατες πληροφορίες σχετικά με τη δράση των συμβιοτικών σε εντεροκυτταρικό επίπεδο (*Eizaguirre et al, 2010*), δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία σε συστηματικό, εξωεντερικό επίπεδο και ιδιαίτερα όσον αφορά στα φαινόμενα της απόπτωσης και της ενδοτοξιναιμίας από λιποπολυσακχαρίτη κατά τη διάρκεια του ΣΒΕ (εξαιρούνται οι πειραματικές μελέτες που αφορούν στην ένεση

λιποπολυσακχαρίτη ενδοπεριτοναϊκά και οι κλινικές μελέτες που αφορούν στην ηπατική νόσο σχετιζόμενη με τη χορήγηση ολικής παρεντερικής διατροφής) (*Tolga Muftuoglu et al, 2011*).

ΣΚΟΠΟΣ

Στη συγκεκριμένη καινοτόμο μελέτη (προοπτική, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη, κλασματοποιημένη, παρεμβατική, πειραματική, διπλά τυφλή μελέτη) ελέγξαμε την υπόθεση ότι τα συμβιωτικά είναι αποτελεσματικά μετά από υφολική εκτομή λεπτού εντέρου όχι μόνο τοποπεριοχικά αλλά και συστηματικά. Η μελέτη χαρακτηρίστηκε ως διπλά τυφλή (double-blind) διότι όλοι οι συμμετέχοντες στη συλλογή και επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ζωοκόμοι, παθολογοανατόμοι, βιοχημικοί) δεν είχαν γνώση του πρωτοκόλλου και ήταν ανεπηρέαστοι στις μετρήσεις και στις αναλύσεις.

Χρησιμοποιήσαμε για αυτόν τον σκοπό ένα καλά μελετημένο ζωικό πρότυπο (επίμυες- ελάχιστο χειρουργικό πρότυπο) σε αυτόν τον τομέα έρευνας (*García-Urkia et al, 2008*). Προς υποστήριξη αυτής της υπόθεσης προσπαθήσαμε αρχικά να επαληθεύσουμε τη βασική αρχή της ελαττωμένης αλλόθεσης της βακτηριακής εντερικής χλωρίδας σε ιστικό επίπεδο· δεύτερον εξετάσαμε την προσαρμογή και ειδικότερα την ανοσολογική και δομική απόκριση (λεμφοκυτταρική επιθηλιακή διήθηση, απόπτωση, ύψος λαχνών) διαφόρων οργάνων στο βακτηριακό λιποπολυσακχαρίτη μετά από αυτή τη μαζική εντερεκτομή σε επίμυες. Καταληκτικά και εξίσου καινοτόμα στην έρευνα μας ήταν η προεγχειρητική χορήγηση συμβιωτικών. Ο σκοπός μας ήταν να εξετάσουμε την πιθανή προληπτική δράση (αθροιστική δράση στην οξεία φλεγμονώδη φάση) των συμβιωτικών στην επακόλουθη λειτουργική διαταραχή του εντέρου και τη βακτηριακή αλλόθεση, κάτω από την επίδραση της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης στο χειρουργικό τραύμα και τη διέγερση των κυτταροκινών στην πρόιμη μετεγχειρητική περίοδο.

Η επιβεβαίωση της υπόθεσής μας θα ενθαρρύνει την καθιέρωση των συμβιωτικών ως θεραπευτικό σύμμετρο, με τις ήδη αποδεδειγμένες ελάχιστες

παρενέργειες, στην αντιμετώπιση του πολύπλοκου πολυοργανικού αυτού συνδρόμου και θα προάγει την πραγματοποίηση σχετικών κλινικών μελετών.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΒΡΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

1.1. Περίληψη

Το σύνδρομο βραχέος εντέρου αποτελεί μία χρόνια κατάσταση δυσαπορρόφησης, ως αποτέλεσμα συνήθως εκτεταμένης εκτομής λεπτού εντέρου. Η κλινική συμπτωματολογία του συνδρόμου αποτελείται από έναν συνδυασμό διαρροιών, θρεπτικής δυσαπορρόφησης, δυσκινσίας και εντερικής διάτασης. Το υπολειπόμενο έντερο υφίσταται μία διεργασία, η οποία αποκαλείται προσαρμογή (adaptation) και μπορεί να υποκαταστήσει την απωλεσθείσα εντερική λειτουργία. Οι χρόνιες επιπλοκές περιλαμβάνουν ανεπάρκεια σε θρεπτικά συστατικά, ηλεκτρολύτες και βιταμίνες. Η θεραπεία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη χορήγηση διαφόρων παραγόντων που διεγείρουν την εντερική προσαρμογή του υπολειπόμενου εντέρου. Σε περίπτωση που ο ασθενής παρά την ιατρική θεραπεία αποτύχει να επιστρέψει στην αποκλειστική εντερική από του στόματος σίτιση, τότε απαιτείται μακροχρόνια χορήγηση παρεντερικής διατροφής. Η τελευταία με τη σειρά της όμως, μπορεί σταδιακά να οδηγήσει σε χολοστατική ηπατική νόσο. Χειρουργικές μέθοδοι μπορεί τότε να απαιτηθούν για την αντιμετώπιση του συνδρόμου, όπως εντερική μεταμόσχευση ως ακροτελεύτια λύση σε τελικά στάδια εντερικής ανεπάρκειας. Στο κείμενο που ακολουθεί αναλύονται το κλινικό φάσμα και οι παθοφυσιολογικές πτυχές του συνδρόμου, η διεργασία της εντερικής προσαρμογής, καθώς και οι σύγχρονες τάσεις συντηρητικής αντιμετώπισης του επιπλεγμένου αυτού συνόλου ασθενών.

1.2. Εισαγωγικά

Το σύνδρομο του βραχέος εντέρου (ΣΒΕ) αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα στην κλινική πράξη, έχοντας προκύψει στις αρχές του περασμένου αιώνα, όταν

ξεκίνησαν να πραγματοποιούνται οι πρώτες εκτομές του γαστρεντερικού σωλήνα. Η απώλεια σημαντικού μήκους λεπτού εντέρου αποτελεί μία δραματική κλινική κατάσταση με ευρύ φάσμα συμπτωμάτων και εκδηλώσεων.

Η πρώτη εντεροκτομή ανάγεται ιστορικά πίσω στο 1880, όταν ο Koeberle πραγματοποίησε εκτομή τμήματος εντέρου μήκους 2 μέτρων σε ασθενή, με αίσια έκβαση (Koeberle, 1881). Μερικές δεκαετίες αργότερα (1935), ο Haymond ανέφερε μία μεγάλη σειρά ασθενών που είχαν υποστεί εντερεκτομή, συμπεραίνοντας ότι μία σχεδόν φυσιολογική εντερική λειτουργία ήταν αναμενόμενη μετά από απώλεια του ενός τρίτου του συνολικού εντερικού μήκους· η απώλεια όμως του 50% του λεπτού εντέρου θεωρήθηκε ως οριακά ασφαλής, ενώ από αυτό το ποσοστό και πάνω παρατηρήθηκαν κακή θρέψη ή ακόμα και θάνατος (Haymond, 1935).

Κατά τη διάρκεια των επόμενων δεκαετιών σημειώθηκε σημαντική πρόοδος στους τομείς της αναισθησιολογίας, του ισοζυγίου υγρών και ηλεκτρολυτών και της περιεγχειρητικής φροντίδας του χειρουργικού ασθενούς. Επιπρόσθετα, μετά το 1960 η εισαγωγή της ολικής παρεντερικής διατροφής (ΟΠΔ) από τους Dudrick και Wilmore (Dudrick et al, 1968; Wilmore et al, 1968) βοήθησε τους συγκεκριμένους ασθενείς στην επιβίωση κατά την πρώτη μετεγχειρητική περίοδο, δίδοντας τον απαραίτητο χρόνο στο υπολειπόμενο έντερο να προσαρμοστεί και να βελτιώσει την απορροφητική του ικανότητα, έτσι ώστε να αναλάβει σε σύντομο χρονικό διάστημα σχεδόν όλες τις λειτουργίες του εκταμένου τμήματος (Wilmore et al, 2000; Freund et al, 2004). Στα επόμενα χρόνια, αναλύθηκαν οι μηχανισμοί που προάγουν την προσαρμογή του υπολειπόμενου εντέρου, συμβάλλοντας στη βελτίωση της αποκατάστασης των συγκεκριμένων ασθενών. Σήμερα, ένας σημαντικός αριθμός ασθενών με μήκος υπολειπόμενου εντέρου μικρότερου από 50 εκ. είναι ανεξάρτητοι

από ενδοφλέβια παρεντερική θρέψη και σε πλαίσιο θεραπείας που βελτιστοποιεί την εντερική απορροφητικότητα (*Wilmore et al, 1997; Platell et al, 2002*).

1.3. Ορισμός

Η απορροφητική ικανότητα του λεπτού εντέρου είναι φυσιολογικά υπερεπαρκής σε σχέση με τις ανάγκες του. Το μήκος του λεπτού εντέρου υπολογίζεται μεταξύ των 3 και 8 μέτρων, με μέσο μήκος τα 4 μέτρα, ανάλογα με το εάν οι μετρήσεις έγιναν χειρουργικά, απεικονιστικά ή μακροσκοπικά (*Bryant, 1924; Fanucci et al, 1984; Nightingale et al, 1991*). Το πρώτο τμήμα, το 12δάκτυλο έχει μήκος 25 με 30 εκ. περίπου, η νήστιδα 160 με 200 εκ. και το υπόλοιπο αποτελεί τον ειλεό. Η πλειονότητα της πέψης και της απορρόφησης των υδατανθράκων και των πρωτεϊνών λαμβάνει χώρα στο 12δάκτυλο και την εγγύς νήστιδα. Ο ειλεός είναι υπεύθυνος για την απορρόφηση των χολικών αλάτων, που εκκρίνονται από το ήπαρ, των λιποδιαλυτών βιταμινών και της βιταμίνης B12, που συνδέεται με τον ενδογενή παράγοντα που παράγεται από το στομάχι. Τα υγρά και οι ηλεκτρολύτες απορροφώνται κυρίως από τον ειλεό και το παχύ έντερο (*Borgstrom et al, 1957; Jeejeebhoy, 2002*).

Το ΣΒΕ ορίζεται ως ένα σύνδρομο δυσαπορρόφησης, που προκύπτει μετά από μαζική εντερεκτομή (*Vanderhoof et al, 1997; Allard et al, 1989*). Το σύνδρομο αυτό προκύπτει όταν το μήκος του υπολειπόμενου εντέρου είναι μικρότερο από 200 εκ. (*Buchman et al, 2003*). Αυτό το μήκος είναι σχετικό, καθώς οι υπάρχουσες μέθοδοι υπολογισμού του υπολειπόμενου μήκους δεν είναι ιδιαίτερα ακριβείς. Εάν το έντερο είναι παθολογικό, όπως συμβαίνει σε νόσους που βλάπτουν το εντερικό επιθήλιο (ν. Crohn, μετακτινική εντερίτιδα), το λειτουργικό μήκος μπορεί να είναι ακόμα μικρότερο (*Slater et al, 1991*). Αυτή η συγκεκριμένη ελάττωση του εντερικού μήκους

είναι συνήθως αποτέλεσμα χειρουργικής εκτομής και προκαλεί σημαντική μείωση στην εντερική απορροφητική επιφάνεια. Κατά συνέπεια, η συνήθης πρόσληψη εντερικών θρεπτικών συστατικών δεν μπορεί να υποστηρίξει τη μάζα σώματος και ο ασθενής οδηγείται σε υποθρεψία. Σταδιακά αναπτύσσεται το ΣΒΕ, που περιγράφει τη σοβαρή αυτή κατάσταση δυσαπορρόφησης, που προκαλείται μετά από εκσεσημασμένη εντερεκτομή. Η προσλαμβανόμενη τροφή απορροφάται δύσκολα και η επακόλουθη διάρροια έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια θρεπτικών συστατικών, υγρών και ιχνοστοιχείων από τον πεπτικό σωλήνα. Ο ασθενής σταδιακά αναπτύσσει συμπτώματα και σημεία χρόνιας αφυδάτωσης και ελλείψεις συγκεκριμένων βιταμινών και ιχνοστοιχείων. Παρόλα αυτά, το ΣΒΕ είναι συμβατό με τη ζωή. Μία ανασκόπηση στη βιβλιογραφία αποδεικνύει ότι στα νεογνά είναι δυνατή η επιβίωση με μήκος εντέρου 40 εκ., εντερική τροφή και απουσία ειλεοτυφλικής βαλβίδας (ETB) ή με 15 εκ. και ανέπαφη ETB (Wilmore, 1972). Στους ενήλικες απαιτείται μακροχρόνια ΟΠΔ όταν το υπολειπόμενο έντερο είναι μικρότερο από 60 με 80 εκ. (Shanbhogue et al, 1994). Η επίπτωση του ΣΒΕ στο γενικό πληθυσμό υπολογίζεται στα 2 περιστατικά το εκατομμύριο ανά έτος (Lennard-Jones, 1990).

1.4. Αιτιολογία

Υπάρχει ουσιώδης διαφορά μεταξύ των αιτίων του ΣΒΕ σε παιδιά και ενήλικες. Στους ενήλικες η πιο συνήθης αιτία ΣΒΕ είναι η θρόμβωση ή η απόφραξη της άνω μεσεντερίου αρτηρίας ή φλέβας, που έχει ως αποτέλεσμα την εκτεταμένη νέκρωση του λεπτού εντέρου και του μισού παχέος εντέρου. Περιστασιακά τα αγγεία αυτά μπορεί να αποφράσσονται από συστροφή ή στραγγαλισμό του λεπτού εντέρου, οφειλόμενη σε συγγενείς ανωμαλίες του γαστρεντερικού σωλήνα. Επιπρόσθετα, ένα τυφλό ή διατιτραίνον τραύμα ή η εκτομή ενός μεγάλου οπισθοπεριτοναϊκού όγκου

μπορούν να βλάψουν τα άνω μεσεντέρια αγγεία προκαλώντας θρόμβωση (*Dabney et al, 2004*).

Οι φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου και ειδικά η υποτροπιάζουσα νόσος του Crohn και σε ένα μικρότερο βαθμό η μετακτινική εντερίτιδα, αποτελούν επίσης συνήθεις αιτίες ΣΒΕ (*Wilmore et al, 1997; Galland et al, 1987*). Η ανάγκη για εκτομή της υποτροπιάζουσας νόσου του Crohn εξαρτάται από παράγοντες που σχετίζονται με την εντόπιση και τη φύση της νόσου (π.χ. διάτρηση) ή από επιπλοκές της χειρουργικής θεραπείας. Επιπρόσθετα, η φλεγμονή του εντερικού υπολοίπου δύναται να επηρεάσει την απορροφητική ικανότητα του εντέρου. Παρά τις προσπάθειες για συντηρητικές εκτομές της νόσου, οι συγκεκριμένοι ασθενείς μπορεί τελικά να εμφανίσουν σημεία και συμπτώματα ΣΒΕ (*Thompson et al, 2003; Thompson, 2000*).

Στα νεογνά η νεκρωτική εντεροκολίτιδα (μία συχνή επίκτητη κατάσταση) και η εντερική ατρησία νηστιδική ή ειλεϊκή (μία συγγενής νόσος) φαίνεται να αποτελούν τις βασικές αιτίες του ΣΒΕ. Άλλες λιγότερο συχνές συγγενείς ανωμαλίες όπως η γαστρόςχιση, η συστροφή του μεσεντερίου και η εκτεταμένη αγγαγγλίωση μπορεί να είναι υπεύθυνες για εκτεταμένη εντερεκτομή και ανάπτυξη ΣΒΕ (*Misiakos et al, 2000*).

Υπάρχουν επίσης λειτουργικές διαταραχές που χαρακτηρίζονται από σοβαρή δυσαπορρόφηση και οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε ΣΒΕ, παρόλο που το εντερικό μήκος παραμένει ανέπαφο. Τέτοιες καταστάσεις μπορεί να είναι το χρόνιο σύνδρομο εντερικής ψευδοαπόφραξης, η εμμένουσα κοιλιοκάκη ή η συγγενής ατροφία των εντερικών θηλών.

1.5. Παθοφυσιολογία

Ένα από τα κυριότερα αποτελέσματα της ελάττωσης του εντερικού μήκους είναι η σημαντική ελάττωση της απορροφητικής του επιφάνειας. Η ικανότητα του λεπτού εντέρου να διατηρεί τη θρέψη μετά από μαζική εντερική εκτομή εξαρτάται από την έκταση και την εντόπιση της εκτομής, την παρουσία της ειλεοτυφλικής βαλβίδας και του κόλου, την προσαρμογή του υπολειπόμενου εντέρου, τη φύση και τις επιπλοκές της υποκείμενης νόσου (*Parekh et al, 2005*). Οι ασθενείς με ΣΒΕ προσαρμόζονται αρχικά στη μειωμένη ενεργειακή απορρόφηση μέσω της υπερφαγίας. Μία δίαιτα η οποία παρέχει το 120% με 200% των συνήθων ενεργειακών και πρωτεϊνικών απαιτήσεων, γενικά αντιρροπεί τη δυσαπορρόφηση που προκύπτει.

Η αφαίρεση του μισού εντερικού μήκους είναι σχετικά καλά ανεκτή όσον αφορά στη θρεπτική απορρόφηση. Σε 24 με 48 ώρες μετά την εντερεκτομή σε πειραματόζωα, το υπολειπόμενο έντερο υφίσταται μία αντίδραση προσαρμογής η οποία χαρακτηρίζεται από επιθηλιακή υπερπλασία (*Hanson et al, 1977*). Επίσης, στους ανθρώπους το έντερο υπερτρέφεται και καθίσταται πιο αποτελεσματικό στην εντερική απορρόφηση. Παρατηρείται μία μικρή επιμήκυνση του εντέρου, αλλά την κυριότερη αλλαγή αποτελεί η αύξηση της διαμέτρου και του ύψους των θηλών, το οποίο επιδρά στην αύξηση της απορροφητικής επιφάνειας (*Doldi, 1991; Dowling et al, 1966*). Αυτή η διαδικασία που ονομάζεται εντερική προσαρμογή (*adaptation*), μπορεί να διαρκέσει ένα με δύο χρόνια και οδηγεί σε αύξηση της εντερικής διαμέτρου, υψηλότερες θηλές, βαθύτερες κρύπτες και ευόδωση του εντεροκυτταρικού πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης (*Warner, 2001; Helmarth et al, 1998*). Η αύξηση αυτή του ύψους των θηλών και του βάθους των κρυπτών μετά από εντερεκτομή πιθανότατα είναι αποτέλεσμα κυτταρικής υπερπλασίας, οδηγώντας

σε μία ουσιώδη αύξηση της εντερικής απορροφητικής επιφάνειας (δομική προσαρμογή- structural adaptation) (Sukhotnik et al, 2003). Αυτές οι αλλαγές μπορεί να συσχετίζονται με τα κυκλοφορούντα επίπεδα στο πλάσμα του glucagon-like peptide- 2 (GLP-2). Το GLP-2 είναι ένας ειδικός εντεροκυτταρικός αυξητικός παράγοντας που παράγεται από τα κύτταρα L του τελικού ειλεού και του κόλου και προκαλεί ανάπτυξη των εντερικών θηλών και κρυπτών (Nightingale, 1999).

Παρόλο που τα εντεροκύτταρα φαίνονται πανομοιότυπα κατά μήκος του λεπτού εντέρου, υπάρχει μία ξεκάθαρη διαφορά στη μορφολογία και τη φυσιολογία μεταξύ ειλεού και νήστιδας (Clarke, 1970). Οι θηλές είναι ψηλότερες και οι κρύπτες βαθύτερες στη νήστιδα απ' ότι στον ειλέο και ανάλογα η θρεπτική απορροφητική ικανότητα των εγγύς τμημάτων του εντέρου είναι πολλαπλάσια μεγαλύτερη των άπω τμημάτων. Κατά συνέπεια η απώλεια σημαντικού τμήματος νήστιδας προκαλεί μεγαλύτερη δυσαπορρόφηση απ' ότι η απώλεια ισοδύναμου τμήματος ειλεού, για τους λόγους που έχουν προαναφερθεί (Westergaard et al, 1993; Johansson, 1975). Παρόλα αυτά, σε περίπτωση νηστιδικής εκτομής, ο τελικός ειλεός είναι ικανός να προσαρμοστεί και να υποκαταστήσει το ρόλο της θρεπτικής απορρόφησης. Αντίθετα, η λειτουργία των εξειδικευμένων κυττάρων του τελικού ειλεού, όπου βρίσκονται οι υποδοχείς της βιταμίνης B12 και του ενδογενή παράγοντα και απορροφούνται τα χολικά άλατα, δεν μπορούν να υποκατασταθούν από υπερτροφία του νηστιδικού επιθηλίου. Σε ασθενείς με διατήρηση του παχέος εντέρου έχουν παρατηρηθεί σημεία εντερικής προσαρμογής. Το μήκος του υπολειπόμενου εντέρου αποτελεί τον κύριο προγνωστικό παράγοντα δυνατότητας προσαρμογής. Σε ακραίες εκτομές εντέρου που καταλήγουν σε τελική νηστιδοστομία δεν έχουν παρατηρηθεί σε ανθρώπους ή ζωικά πρότυπα, προσαρμοστικές αλλαγές (Cisler et al, 2005). Έχει αποδειχτεί πειραματικά, ότι κατά τη διάρκεια της διαδικασίας προσαρμογής, μία υπερπλαστική απόκριση είναι

παρούσα σε όλα τα τμήματα του εντέρου. Η υπερπλασία είναι μεγαλύτερη στον ειλεό απ' ότι στη νήστιδα, ενώ στη νήστιδα είναι πιο έντονη η υπερτροφική απόκριση. Γι' αυτό το λόγο στη νήστιδα, όπου συντελείται το μεγαλύτερο μέρος της απορρόφησης υγρών και θρεπτικών στοιχείων, λαμβάνει χώρα μία αύξηση του ύψους των θηλών, χωρίς συνοδό αύξηση του αριθμού των εντεροκυττάρων. Από την άλλη στον ειλεό, όπου διενεργείται πιο εκλεκτική απορρόφηση θρεπτικών ουσιών, είναι υποχρεωτική η αύξηση του αριθμού των κυττάρων μεταφοράς (υπερπλασία) (*Collantes Perez et al, 2004*).

Προσωρινή υπεργαστριναιμία και αυξημένη έκκριση γαστρικού οξέος παρατηρείται στο 50% περίπου των ασθενών με εκτενείς εντερεκτομές. Ο μηχανισμός δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί και η υπερέκκριση φαίνεται να είναι προσωρινή (*Windsor et al, 1969; Williams et al, 1985*). Η γαστρική κένωση είναι σημαντικά πιο αργή στους ασθενείς με ΣΒΕ με διατήρηση του κόλου και είναι περίπου όμοια με το φυσιολογικό πληθυσμό. Η απώλεια της επιβράδυνσης της γαστρικής κένωσης και της εντερικής διόδου σε ασθενείς με απουσία κόλου σχετίζεται με μία σημαντική μείωση του πεπτιδίου YY (PYY), του glucagon-like-peptide 1 (GLP-1) και της νευροτενσίνης (*Nightingale et al, 1996*). Ο PYY εκκρίνεται φυσιολογικά από τα L κύτταρα του ειλεού και του κόλου κατόπιν διέγερσης από το λίπος ή τα χολικά άλατα. Προφανώς αυτά τα κύτταρα απουσιάζουν από ασθενείς που έχουν υποστεί εκτομή του άνω ειλεού και του κόλου. Στο ΣΒΕ η ταχεία γαστρική κένωση και η βραδεία εντερική διάδοση μπορούν να επηρεάσουν τη γαστρική φάση της πέψης, έχοντας ως αποτέλεσμα την ανεπαρκή ανάμιξη του γαστρικού χυλού με τις χολικές και παγκρεατικές εκκρίσεις και οδηγώντας σε ανεπαρκή θρέψη. Αυτή η βραδεία γαστρεντερική διάβαση ονομάζεται λειτουργική προσαρμογή (functional adaptation). Η δυσκινησία μετά από εντερεκτομή δύναται να

προδιαθέσει σε βακτηριακή υπερανάπτυξη. Επιπρόσθετα, η εκτομή της ειλεοτυφλικής βαλβίδας επιτρέπει στα βακτήρια την είσοδο και τον πολλαπλασιασμό τους στο λεπτό έντερο. Αυτό επηρεάζει την πέψη και την απορρόφηση, καθώς τα βακτήρια ανταγωνίζονται με τα εντεροκύτταρα για τα θρεπτικά συστατικά (Gracy, 1979). Επιπρόσθετα, η εκτομή τμήματος λεπτού εντέρου καταλήγει σε απώλεια απορροφητικής επιφάνειας για τη διαδικασία της διάχυσης και σε απώλεια των ενζύμων των μικροθηλών και των ειδικών μεταφορέων. Επακόλουθα, σημειώνεται μείωση στην πεπτική διεργασία στις μικροθηλές και στην ενεργητική μεταφορά των συστατικών. Κατά συνέπεια, στο ΣΒΕ επηρεάζονται τόσο η πεπτική όσο και η απορροφητική διεργασία. Φυσιολογικά η πέψη και η απορρόφηση των θρεπτικών ουσιών γίνεται στα πρώτα 100 εκ. της νήστιδας, γι' αυτό ασθενείς με ΣΒΕ που διατηρούν ανέπαφο το τμήμα αυτό, δύνανται να διατηρήσουν φυσιολογική από του στόματος θρέψη.

Η συρρίκνωση της απορροφητικής επιφάνειας μετά από σημαντική εντερεκτομή μπορεί σταδιακά να οδηγήσει σε δυσαπορρόφηση θρεπτικών ουσιών, νερού και ηλεκτρολυτών. Διακρίνονται δύο τύποι ασθενών με ΣΒΕ. Μερικοί ασθενείς έχουν υποστεί εκτομή του ειλεού και τμήματος νήστιδας με νηστιδοκολική αναστόμωση. Άλλοι υφίστανται εκτομή του κόλου, του ειλεού και τμήματος νήστιδας με δημιουργία νηστιδοστομίας (Nightingale, 1999). Ασθενείς με ΣΒΕ, ειδικά αυτοί με υψηλή νηστιδοστομία, δεν μπορούν να απορροφήσουν τον υψηλό όγκο νερού και ηλεκτρολυτών (8 L/d), που εκκρίνονται από το γαστρεντερικό σωλήνα και εμφανίζουν σημαντική ποσότητα διάρροιας. Οι Nightingale και συνεργάτες (Nightingale et al, 1990) ανέφεραν ότι ένα μικρό σύνολο ασθενών με νηστιδοστομία και ελεύθερη πρόσβαση σε νερό και τροφή, εμφάνιζαν διάρροιες σε όγκο από 3.2 έως 8.3 L/d. Το κόλον σε αυτούς τους ασθενείς καθίσταται σημαντικό όργανο πέψης και

εάν δε διατηρείται, η πέψη δυσχεραίνεται επιπλέον. Το κόλον έχει μεγάλη απορροφητική ικανότητα νερού και ηλεκτρολυτών, σε ποσότητα περίπου τρία με τέσσερα λίτρα ισότονου διαλύματος άλατος την ημέρα. Γι' αυτό το λόγο, η διατήρηση του παχέος εντέρου δύναται να ελαττώσει την απώλεια νερού και ηλεκτρολυτών στο ΣΒΕ. Επίσης, οι αδιάσπαστοι υδατάνθρακες διασπώνται από τα εντερικά βακτήρια σε λιπαρά οξέα μικρής αλύσου και γαλακτικό, που απορροφώνται από το βλεννογόνο του κόλου. Η διαδικασία αυτή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη θερμιδική διάσωση των αδιάσπαστων υδατανθράκων (*Nightingale et al, 1992; Woolf et al, 1987*). Όπως αναφέρθηκε, η διατήρηση του κόλου επιβραδύνει τη γαστρική κένωση των υγρών (*Nightingale et al, 1993*). Αυτή η διαδικασία γνωστή και ως κολονικός φραγμός (colonic brake) οφείλεται πιθανότατα στα αδιάσπαστα θρεπτικά συστατικά που φθάνουν στο κόλον και προκαλούν την απελευθέρωση σημαντικής ποσότητας ΡΥΥ.

Η ένδεια νερού και νατρίου, συχνότερα στους ασθενείς με νηστιδοστομία, μπορούν να καταλήξουν σε υπόταση και οξεία νεφρική ανεπάρκεια. Φυσιολογικά περίπου 6 λίτρα χυλού περνούν από τη δωδεκαδακτυλονηστιδική συμβολή, αλλά σε απόσταση ενός μέτρου περιφερικότερα του σημείου αυτού, ο όγκος του χυλού είναι ο ίδιος περίπου με την από του στόματος πρόσληψη. Σε ασθενείς με νηστιδοστομία και μήκος εντέρου μικρότερο από 1 μέτρο εκκρίνονται περισσότερα υγρά από όσα προσλαμβάνονται από του στόματος και αυτοί οι ασθενείς ονομάζονται ‘‘εκκριτικοί’’ (secretors) (*Nightingale, 2001; Fordtran et al, 1966*). Για να χαρακτηριστεί ένας ασθενής ως ‘‘καθαρά εκκριτικός’’ με υψηλής απόδοσης νηστιδοστομία, πρέπει να αποκλειστούν άλλες νόσοι, όπως εντερίτιδα, υποτροπιάζουσα νόσος υπολειπόμενου εντέρου (σε μετακτινική εντερίτιδα και νόσο του Crohn) ή ενδοκοιλιακή σήψη. Από την άλλη, ασθενείς με μήκος νήστιδας μεγαλύτερο από ένα μέτρο, μπορούν να

απορροφήσουν περισσότερο νερό και νάτριο με τη δίαιτα από ότι αυτό που προσλαμβάνουν από του στόματος και ονομάζονται ‘‘απορροφητικοί’’ (absorbers).

Η υπομαγνησισαιμία και η υποσβεστιαϊμία είναι για αδιευκρίνιστους λόγους συχνές στο ΣΒΕ. Το μαγνήσιο και το ασβέστιο απορροφούνται κυρίως στο 12δάχτυλο και την εγγύς νήστιδα· κατά συνέπεια οι συγκεκριμένες διαταραχές εμφανίζονται σε άτομα που έχουν υποστεί εκτομή του ανάλογου τμήματος εντέρου. Η υπομαγνησισαιμία συναντάται κυρίως σε ασθενείς με διάρροιες και σοβαρή δυσαπορρόφηση λίπους, ως αποτέλεσμα της εξάντλησης του νατρίου και του δευτεροπαθούς υπεραλδοστερινισμού (Nightingale, 2003). Τιμή κάτω από 0.6 mmol/L μπορεί να πυροδοτήσει συμπτωματολογία όπως κόπωση, μυική αδυναμία, κατάθλιψη, ευερεθιστότητα και σπασμούς (Selby et al, 1984).

Προβλήματα με το κάλιο ανακύπτουν όταν έχουν απομείνει λιγότερα από 50 εκ. νήστιδας. Η υποκαλιαϊμία μπορεί να οφείλεται σε δευτεροπαθή υπεραλδοστερινισμό κατόπιν κατανάλωσης νατρίου και απώλειας καλίου με τα ούρα· μπορεί επίσης να είναι αποτέλεσμα κατανάλωσης μαγνησίου.

Επειδή η απορρόφηση της βιταμίνης B12 και των χολικών αλάτων περιορίζεται στον τελικό ειλεό, εκτομή του ειλεού (συχνή σε ασθενείς με ΣΒΕ) οδηγεί σε δυσαπορρόφηση. Η δυσαπορρόφηση της B12 εκδηλώνεται όταν έχουν εκταμεί πάνω από 50 με 60 εκ. ειλεού (Booth et al, 1959; Thompson et al, 1977). Όταν αφαιρούνται πάνω από 100 εκ. ειλεού, η αυξημένη ηπατική σύνθεση των χολικών αλάτων δεν επαρκεί για να καλύψει τις απώλειες με τις κενώσεις και προκαλείται δυσαπορρόφηση του λίπους, ως αποτέλεσμα της επηρεασμένης διαλυτότητας. Η δυσαπορρόφηση του λίπους οδηγεί σε εκσεσημασμένη διάρροια (Booth et al, 1961). Αδιάσπαστα λιπαρά οξέα μακράς αλυσού στο κόλον ελαττώνουν το χρόνο εντερικής διόδου (Spiller et al, 1986) και επιδεινώνουν τη διάρροια με τη

μείωση της απορρόφησης νερού και νατρίου (*Ammon et al, 1973*). Επιπρόσθετα, είναι τοξικά απέναντι στα βακτήρια και ελαττώνουν τη ζύμωση των υδατανθράκων (*Knapp et al, 1986*).· επίσης, συνδέονται με το ασβέστιο και το μαγνήσιο αυξάνοντας την αποβολή των ιχνοστοιχείων αυτών από την εντερική οδό. Το ασβέστιο και τα οξαλοξικά σχηματίζουν συνήθως ένα δυσδιάλυτο σύμπλεγμα στο κόλον, καθώς όμως τα ελεύθερα λιπαρά οξέα συνδέονται με το ασβέστιο στο κόλον, τα οξαλοξικά καθίστανται ευδιάλυτα και απορροφώνται. Ως αποτέλεσμα της υπεροξαλουρίας αυτής παρατηρείται ο σχηματισμός νεφρικών λίθων (*Earnest et al, 1974*).

Οι χολόλιθοι είναι συχνοί (45%) στο ΣΒΕ, ανεξαρτήτως τύπου, και απαντώνται πιο συχνά στους άνδρες. Η χολολιθίαση στο ΣΒΕ είναι πιθανώς αποτέλεσμα χολοκυστικής στάσης, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό χολικής λάσπης. Οι χολόλιθοι περιέχουν συνήθως χολερυθρινικό ασβέστιο, δίνοντας την εικόνα ασβεστοποίησης στην ακτινογραφία κοιλίας. Ο κύριος λόγος για το σχηματισμό χολικής λάσπης είναι η χειρουργική επέμβαση στην κοιλιακή κοιλότητα, η νόσος του Crohn, η ταχεία απώλεια βάρους, η εκτομή του ειλεού, οι αλλαγές στη γαστρεντερική δίοδο και στη χλωρίδα, η διαταραχή στο μεταβολισμό της χοληστερόλης και της χολερυθρίνης (*Byrne et al, 2001*).

Εκτός από την έλλειψη Β12 στους ασθενείς με ΣΒΕ και εκτομή του τελικού ειλεού, συνυπάρχουν και ελλείψεις άλλων βιταμινών. Επειδή οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες απορροφώνται στο εγγύς τμήμα της νήστιδας, είναι ασυνήθιστο να προκληθούν αβιταμινώσεις, εκτός από τους ασθενείς με υψηλή νηστιδοστομία. Έλλειψη θειαμίνης και βιοτίνης έχει αναφερθεί σε σπάνιες περιπτώσεις με σχετική συμπτωματολογία (*Schiano et al, 1996; Mock et al, 1981*). Σε ασθενείς με εκτομές της εγγύς νήστιδας μπορεί να εμφανισθεί έλλειψη φυλλικού οξέος (*Denburg et al, 1977*).

Έλλειψη λιποδιαλυτών βιταμινών (A, D, E) είναι πιο συχνή σε ασθενείς με ΣΒΕ εξαιτίας της στεατόρροιας και της επακόλουθης ελλιπούς πέψης του λίπους (*Edes et al, 1991*). Η τυπική κλινική συμπτωματολογία των ανωτέρω αβιταμινώσεων έχει περιγραφεί αναλυτικά στους ασθενείς με ΣΒΕ (*Mokete et al, 1998; Selby et al, 1984; Howard et al, 1982*). Η βιταμίνη Κ συντίθεται κυρίως από τα κολονικά βακτήρια (60%) και γι' αυτό το λόγο η έλλειψή της είναι ασυνήθης σε ασθενείς με ανέπαφο κόλον (*Conly et al, 1994*).

1.6. Η φυσιολογική διεργασία της εντερικής προσαρμογής

Η μετεγχειρητική διεργασία προσαρμογής περιλαμβάνει 3 φάσεις (*Keller et al, 2004*):

1. η οξεία φάση, η οποία ξεκινά άμεσα μετά την εντερεκτομή και διαρκεί για μία περίοδο 4 εβδομάδων περίπου. Αποτελεί την αρχική φάση σταθεροποίησης του ασθενούς.
2. η φάση προσαρμογής διαρκεί 1 με 2 χρόνια. Οι ασθενείς συνήθως χρήζουν παρεντερικής θρεπτικής υποστήριξης σε συνδυασμό με εντερική θρέψη, μέχρι το έντερό τους να υποστεί επαρκή προσαρμογή.
3. η φάση διατήρησης ακολουθεί τη φάση προσαρμογής. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης η μόνιμη θρέψη πρέπει να εξατομικεύεται ανάλογα με την ποιότητα και την ποσότητα των θρεπτικών ελλείψεων. Μερικοί ασθενείς πιθανόν να μη φτάσουν ποτέ στο στάδιο της εντερικής θρέψης και εξακολουθούν την κατ' οίκον λήψη παρεντερικής διατροφής.

Το εντερικό επιθήλιο παράγει αρκετούς νευροορμονικούς μεσολαβητές και αυξητικούς παράγοντες, που έχουν τροφική επίδραση στο έντερο. Τα κυριότερα πεπτίδια με τροφικές επιδράσεις είναι το εντερογλουκαγόνο, το glucagon-like-

peptide 1 και 2 (GLP-1 και 2), ο insulin-like growth factor-1 (IGF-1), το πεπτίδιο tyrosine tyrosine (PYY), και η νευροτενσίνη (*Scolapio, 2004; Cisler et al, 2005*). Μετά την εντερεκτομή η συχνότητα έκκρισης αυτών των πεπτιδίων αυξάνει σε μία προσπάθεια να αντιρροπιστεί η ιστική απώλεια. Μεταξύ των παραγόντων αυτών, το GLP-2 φαίνεται να έχει δυνητικά μία τροφική επίδραση στο έντερο, καθώς διεγείρει τον εντεροκυτταρικό πολλαπλασιασμό και ταυτόχρονα μειώνει τη συχνότητα της εντεροκυτταρικής απόπτωσης.

1.7. Κλινική εικόνα και Διάγνωση

Η κλινική συμπτωματολογία των ασθενών με ΣΒΕ καθορίζεται κυρίως από τον τύπο και την έκταση της εντερεκτομής. Διακρίνονται 3 τύποι εκτομής στο ΣΒΕ: (1) εκτομή του ειλεού με ή χωρίς την ειλεοτυφλική βαλβίδα (νηστιδοκολική), (2) μερική νηστιδεκτομή, ειλεϊκή και κολική εκτομή με συνοδό νηστιδοστομία και (3) προεξάρχουσα νηστιδική εκτομή με διατήρηση περισσότερου από 10 εκ. τελικού ειλεού και του κόλου (*Carbonnel et al, 1996*).

Οι ασθενείς με νηστιδοκολική αναστόμωση συχνά φαίνονται σε καλή κατάσταση μετά την εντερεκτομή πλην της διάρροιας ή/και της στεατόρροιας, αλλά στους επόμενους μήνες χάνουν βάρος και υποθρέπονται σημαντικά. Οι ασθενείς με νηστιδοστομία έχουν προβλήματα αφυδάτωσης αμέσως μετά το χειρουργείο εξαιτίας της μεγάλης απώλειας από τη στομία νερού και ηλεκτρολυτών. Ο βαθμός δυσαπορρόφησης ποικίλλει από ήπιο στον πρώτο τύπο έως σοβαρό σε ασθενείς με υψηλή νηστιδοστομία. Οι ασθενείς με εκσεσημασμένη παν-υποθρεψία βρίσκονται σε σοβαρό κίνδυνο ανάπτυξης συμπτωμάτων ανεπάρκειας εξαιτίας της δυσαπορρόφησης θρεπτικών ουσιών, νερού, ηλεκτρολυτών, βιταμινών και ιχνοστοιχείων.

Η διάγνωση του ΣΒΕ σπάνια τίθεται εν αμφιβόλω, καθώς οι ασθενείς αυτοί έχουν υποστεί εκτομή ποικίλου μήκους εντέρου. Κατά τη λαπαροτομία ο χειρουργός πρέπει να διατηρεί όλο το βιώσιμο τμήμα εντέρου και να υπολογίζει το υπολειπόμενο μήκος του λεπτού και του παχέος εντέρου. Η κλινική αξιολόγηση του ΣΒΕ περιλαμβάνει συνυπολογισμό του υπολειπόμενου μήκους εντέρου, του νερού, των ηλεκτρολυτών και του θρεπτικού προφίλ. Ο υπολογισμός του υπολειπόμενου μήκους εντέρου μπορεί να γίνει στο χειρουργείο ή ακτινοσκοπικά (*Nightingale et al, 1991*). Το λειτουργικό μήκος του εντέρου μπορεί να υπολογιστεί με τη χρήση του αμινοξέος κιτρουλίνη. Το αμινοξύ αυτό συντίθεται αποκλειστικά στα εντεροκύτταρα από τη γλουταμίνη και είναι αξιόπιστος δείκτης υπολογισμού της εντεροκυτταρικής μάζας. Τα επίπεδα της κιτρουλίνης στο πλάσμα μετά την απορρόφηση αντιστοιχούν στο λειτουργικό μήκος του υπολειπόμενου εντέρου (*Crenn et al, 2000; Jianfeng et al, 2005*).

1.8. Μη Χειρουργική Αντιμετώπιση

1.8.1. Οξεία Φάση

Κατά την πρώτη νοσηλεία τοποθετείται διαδερμικά κεντρική φλεβική γραμμή με τα γνωστά της προτερήματα και μειονεκτήματα, και χρησιμοποιείται για τη χορήγηση θρεπτικών συστατικών. Στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο οι περισσότεροι ασθενείς χρήζουν χορήγησης ΟΠΔ με προσεκτική καταγραφή του βάρους και του ισοζυγίου νερού και ηλεκτρολυτών. Πριν την έξοδο του ασθενούς πρέπει να τοποθετείται μόνιμος κεντρικός καθετήρας, συνήθως υποκλείδιος, σιλικονούχος, με ή χωρίς υποδόριο port. Αυτό χρησιμοποιείται για μακροχρόνια χορήγηση παρεντερικής διατροφής κατά τη διάρκεια της φάσης προσαρμογής, μέχρι το υπολειπόμενο έντερο να μπορέσει να αναλάβει.

Η αντιμετώπιση του ΣΒΕ βασίζεται κυρίως στην αντικατάσταση των απωλειών υγρών και στον έλεγχο της διάρροιας. Η διάρροια είναι συνήθως εκσεσημασμένη και είναι αποτέλεσμα των αυξημένων εντερικών εκκρίσεων και της ωσμωτικής διέγερσης από την έκκριση νερού, εξαιτίας της δυσαπορρόφησης του ενδαυλικού περιεχομένου. Η διάρροια ελέγχεται με την αναστολή της από του στόματος πρόσληψης και της μείωσης των ωσμωτικών περιεχομένων. Η γαστρική υπερέκκριση μετά από εντερεκτομή ελέγχεται με την ενδοφλέβια χορήγηση αναστολέων της αντλίας πρωτονίων ή αποκλειστών των H₂ υποδοχέων (*Nightingale et al, 1991; Jeppesen et al, 1998*). Τα ανωτέρω χορηγούνται από του στόματος μετά την έναρξη της εντερικής σίτισης, μαζί με λοπεραμίδη ή διφαινοξαλικά, τα οποία δύνανται να ελαττώσουν την εντερική δίοδο σε έναν με τρεις περισταλτισμούς ημερησίως.

Μετά την έξοδο του ασθενούς, η αντιμετώπιση πρέπει να στοχεύει στη διατήρηση επαρκούς θρεπτικής υποστήριξης και ισοζυγίου υγρών και ηλεκτρολυτών, συνδυάζοντας την ΟΠΔ με μία στοιχειώδη εντερική διατροφή. Ο ασθενής μεταφέρεται σε μονάδα αποκατάστασης ή στο σπίτι, όπου μαθαίνει πως να χειρίζεται μόνος του την ΟΠΔ και πως να προσαρμόζεται σταδιακά στην εντερική σίτιση.

Οι ασθενείς με ΣΒΕ που έχουν διατηρήσει το κόλον σπάνια εμφανίζουν αρνητικό ισοζύγιο αζώτου και νερού, επειδή το κόλον έχει μεγάλη ικανότητα απορρόφησής τους. Από την άλλη, ανάμεσα στους ασθενείς με νηστιδοστομία, οι καθαροί ‘‘απορροφητικοί’’ (absorbers) αντιμετωπίζονται με από του στόματος χορήγηση, ενώ οι καθαροί ‘‘εκκριτικοί’’ (secretors) χρήζουν παρεντερικής διατροφής.

Οι ασθενείς με νηστιδοστομία υψηλής απόδοσης πρέπει να αντιμετωπίζονται με περιορισμό του συνολικού ποσού πρόσληψης υπότονων διαλυμάτων (νερό, καφές,

τσάι κτλ) σε ποσότητα μικρότερη των 500 ml/d. Οι ασθενείς ενθαρρύνονται να προσθέτουν αλάτι στη διαίτά τους ή να καταναλώνουν διαλύματα γλυκόζης (*Nightingale et al, 1992*). Η απορρόφηση των υγρών βελτιώνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του νατρίου. Επιπρόσθετα, η γλυκόζη επαυξάνει την απορρόφηση του νατρίου, καθώς στη νήστιδα επιτυγχάνεται συζευγμένη απορρόφησή τους. Ένα συχνά χρησιμοποιούμενο διάλυμα από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας είναι το διάλυμα κατά της χολέρας, που αποδίδει 90 mmol/lit νάτριο (*Avery et al, 1990*). Αυτή η συγκέντρωση είναι πολύ πιο υψηλή από αυτήν που χρειάζεται κανείς για την αντιμετώπιση της λοιμώδους διάρροιας. Οι ασθενείς αυτοί με νηστιδοστομία υψηλής απόδοσης δεν πρέπει να προσλαμβάνουν υπότονα διαλύματα, καθώς αυξάνεται η απώλεια νατρίου από τη στομία.

Αντιδιαρροϊκοί παράγοντες πρέπει να χορηγούνται επιπρόσθετα για τη μείωση της εντερικής κινητικότητας πριν τα γεύματα, με καλύτερη ανταπόκριση των “απορροφητών”. Οι “εκκριτικοί” επωφελούνται από φάρμακα που μειώνουν τη γαστρική οξύτητα. Η οκτρεοτίδη είναι επίσης χρήσιμη, καθώς ελαττώνει την εξωκρινή έκκριση και τη γαστρεντερική κινητικότητα (*Cooper et al, 1986; O’Keefe et al, 1994*).

Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει πως η οκτρεοτίδη μειώνει την παροχή της νηστιδοστομίας (*Dharmathophorn et al, 1982; Shaffer et al, 1988*), χωρίς βελτίωση της συνολικής ενέργειας και της απορρόφησης του αζώτου (*Leman et al, 1984*). Άλλοι συγγραφείς δεν υποστηρίζουν τη χρήση της σε ασθενείς με ΣΒΕ, καθώς μειώνει τη μεταφορά θρεπτικών ουσιών και την απορρόφηση στο λεπτό έντερο και δε συμβάλλει στην εντερική προσαρμογή. Γενικά, η οκτρεοτίδη είναι επωφελής στα κρίσιμα στάδια των ασθενών με μικρό υπόλοιπο εντέρου, αλλά δεν ενδείκνυται για

μόνιμη αντιμετώπιση, καθώς αναπτύσσεται ταχυφυλαξία εβδομάδες μετά την έναρξη της θεραπείας.

Το νάτριο, το χλωριούχο κάλιο και το μαγνήσιο είναι τα σημαντικότερα ιόντα που χρήζουν αντικατάστασης. Οι απώλειες γαστρικού υγρού πρέπει να αντικαθίστανται με φυσιολογικό ορό. Οι παγκρεατικές και οι νηστιδικές απώλειες αναπληρώνονται με ένα μίγμα φυσιολογικού ορού και γαλακτικού νατρίου σε αναλογία 4:1. Επιπρόσθετα, 20 mmol/lit καλίου και 7 με 10 mmol/lit θειϊκού μαγνησίου πρέπει να χορηγούνται. Η συχνή μέτρηση των ηλεκτρολυτών του ορού είναι επιβεβλημένη. Η ενδοφλέβια χορήγηση υγρών πρέπει να εξασφαλίζει ανάλογη παροχή ούρων και να μειώνεται όσο αυξάνεται η από του στόματος πρόσληψη.

Οι ασθενείς με εκσεσημασμένη εντερεκτομή επιβάλλεται να μένουν νήστεις έως και δέκα μέρες μετά το χειρουργείο, προς επίτευξη επαρκούς ανάρρωσης των εντερικών αναστομώνσεων. Οι ασθενείς με υπολοιπούμενο μήκος εντέρου μικρότερου από 60 εκ. νήστιδας, πρέπει να σιτίζονται αρχικά με μικρούς όγκους διαλύματος γλυκόζης και ηλεκτρολυτών. Οι ασθενείς με πιο περιορισμένες εντερεκτομές, δηλαδή με μήκος νήστιδας μικρότερο από ένα μέτρο, επιβάλλεται να σιτίζονται αρχικά με το ίδιο διάλυμα υδατανθράκων και ηλεκτρολυτών, όπως το προηγούμενο σύνολο ασθενών, ή με στοιχειακό ή πολυμερικό εντερικό διάλυμα. Δεν υπάρχει ασφαλής πρόταση της πιο κατάλληλης διαίτας για ασθενείς με υψηλή νηστιδοστομία. Τα περιορισμένα διαθέσιμα στοιχεία προκρίνουν ότι η χρήση πολυμερικής διαίτας είναι εξίσου χρήσιμη για αυτούς τους ασθενείς με τη διαίτα πεπτιδίων (*McIntyre et al, 1986*). Παρόλ' αυτά, μία γαλλική έρευνα απέδειξε ότι υπήρξε βελτίωση στην απορρόφηση των πρωτεϊνών μετά από διαίτα μικρών πεπτιδίων σε σύγκριση με την πολυμερική διαίτα σε ασθενείς με υψηλή νηστιδοστομία (*Cosnes et al, 1992*). Τα διαλύματα αυτά χορηγούνται αρχικά μέσω ρινογαστρικού σωλήνα και σε λίγες μέρες

από του στόματος. Η εντερική πρόσληψη βοηθά ιδιαίτερα στη διατήρηση της εντερικής μάζας και στην επαγωγή των προσαρμοστικών μεταβολών του υπολειπόμενου εντέρου. Η τροφή εντός του εντέρου διεγείρει την απελευθέρωση των χολοπαγκρεατικών εκκρίσεων, διατηρώντας τη βλεννογόνια δομή και διεγείροντας την απελευθέρωση ρυθμιστικών πεπτιδίων από το επιθήλιο, τα οποία βελτιώνουν την εντερική λειτουργία. Έχει αποδειχθεί πειραματικά ότι φυσιολογικά ζώα, τα οποία προσλαμβάνουν παρεντερικά και όχι εντερικά τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, αναπτύσσουν επιθηλιακή ατροφία (Levine *et al*, 1974). Επιπρόσθετα, μετά από εντερεκτομή, τα εντερικώς τρεφόμενα πειραματόζωα εμφάνισαν εντερική υπερτροφία, σε αντίθεση με τα πειραματόζωα που ετράφησαν παρεντερικά και εμφάνισαν ατροφία (Levy *et al*, 1988).

Σε ασθενείς που έχουν υποστεί εκσεσημασμένη εντερεκτομή και εμφανίζουν μαζικές διάρροιες, είναι απαραίτητο να επιτευχθεί εντερική υπερθρεψία. Παρά την αρχική αύξηση του βάρους των κοπράνων, η εντερική σίτιση σε αυτούς τους ασθενείς σταδιακά βελτιώνει το ισοζύγιο υγρών και ηλεκτρολυτών, αυξάνει το βάρος σώματος και σταθεροποιεί τους ασθενείς ούτως ώστε να μπορέσουν σύντομα να απαλλαγούν από την παρεντερική σίτιση (Cosnes *et al*, 1985).

Σε ασθενείς με μήκος εντέρου μεγαλύτερο από 100 εκ. νήστιδας η επανασίτιση πρέπει να γίνεται σταδιακά, με απώτερο στόχο την αποκλειστική εντερική σίτιση.

1.8.2. Φάση Προσαρμογής

Κατά τη διάρκεια της φάσης προσαρμογής ο ασθενής πρέπει να τίθεται σε εντερική σίτιση με σταδιακή φόρτιση σε θρεπτικά συστατικά. Η δίαιτα πρέπει να περιλαμβάνει ελεύθερα λιπαρά οξέα, μικρή ποσότητα μέσης αλύσου τριγλυκερίδια σε

ασθενείς με διατήρηση του κόλου και αργότερα μακράς αλύσου τριγλυκερίδια, υδατάνθρακες, όπως σακχαρόζη και μαλτόζη, πεκτίνη και επαρκή ποσότητα βιταμινών και ιχνοστοιχείων. Η από του στόματος πρόσληψη πρέπει να αυξάνεται σταδιακά σε 30-40 kcal/kg/d με συχνά, μικρά, στερεά γεύματα.

Εάν η εντερική σίτιση δεν είναι επαρκής να παράσχει επιπρόσθετη ενέργεια, πρέπει να χρησιμοποιείται ως συμπληρωματική κατά τη διάρκεια της φάσης προσαρμογής. Ένας μόνιμος ρινογαστρικός σωλήνας ή μία διαδερμική ενδοσκοπική γαστροστομία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εντερική σίτιση. Η συνεχής εντερική έγχυση θεωρείται καλύτερη από την ενδοφλέβια και μπορεί να γίνεται και κατά τη διάρκεια της νύχτας. Παρόλ' αυτά, η εντερική διατροφή σχετίζεται συνήθως με επιδείνωση της διάρροιας. Η διάρροια φαίνεται να βελτιώνεται και με τον καιρό μειώνεται ο όγκος των κενώσεων σε ασθενείς με υπόλοιπο εντέρου μικρότερο από 80 εκ.

Η από του στόματος σίτιση όταν ξεκινά πρέπει να περιέχει ρύζι, καθώς το άμυλο του ρυζιού απορροφάται καλύτερα σε σχέση με τους άλλους υδατάνθρακες (Stephen *et al*, 1983). Οι διαλυτές ίνες που μεταπίπτουν σε λιπαρά οξέα μικρής αλύσου στο κόλον, μπορούν να προμηθεύσουν πάνω από 500 με 1000 kcal/d σε ασθενείς με διατήρηση του κόλου. Επιπρόσθετα, τα τριγλυκερίδια μέσης αλύσου μπορούν να απορροφώνται από το κόλον και να παρέχουν μία σημαντική πηγή ενέργειας (Jeppesen *et al*, 1998). Οι περισσότεροι ασθενείς με ΣΒΕ μπορούν να ανεχτούν μία δίαιτα με περιεκτικότητα σε λακτόζη, εφόσον μπορούσαν να την ανεχτούν και πριν. Η λακτόζη μπορεί να εξαιρεθεί από τη δίαιτα στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο, έστω και αν το έντερο δείχνει να ξεπερνά το αρχικό σοκ· αργότερα μπορούν να προστεθούν 20g/d λακτόζης στη δίαιτα, με λιγότερο από 4 g/d σε μορφή γάλακτος (Marteau *et al*, 1997). Η δίαιτα πρέπει να παρέχει υψηλή

ενέργεια σε υδατάνθρακες και λίπος. Υπάρχουν συγκεκριμένα προβλήματα που σχετίζονται με τη δίαιτα. Σε σπάνιες περιπτώσεις, μία δίαιτα πλούσια σε υδατάνθρακες (ειδικά μονο- ή ολιγοσακχαρίτες) μπορεί να προκαλέσει D γαλακτική οξέωση (*Mayne et al, 1990*).

Ο μη φυσιολογικός κολονικός βακτηριακός αποικισμός μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολική οξέωση, εξαιτίας του σχηματισμού και της απορρόφησης των d(-) ισομερών του γαλακτικού οξέος, τα οποία δεν μπορούν να μεταβολιστούν. Η γαλακτική οξέωση μπορεί να προκαλέσει σύνδρομο αταξίας, οφθαλμοπληγία και νυσταγμό. Η αντιμετώπιση συνίσταται στην αλλαγή της διαίτας σε δίαιτα υψηλή σε πολυσακχαρίτες (χαμηλή σε μονο- και ολιγοσακχαρίτες) και χορήγηση ευρέος φάσματος αντιβιοτικών. Επίσης η δίαιτα πρέπει να περιλαμβάνει μία μέτρια ποσότητα λιπαρών οξέων μακράς αλύσου, καθώς μπορεί να επιδεινωθεί η διάρροια εξαιτίας της ελάττωσης της απορρόφησης του νατρίου και του νερού στα πρώιμα στάδια της νόσου (*Ammon et al, 1973*). Από την άλλη, τα λιπαρά οξέα μακράς αλύσου φαντάζουν ως πιο αποτελεσματικοί διεγέρτες της εντερικής προσαρμογής σε σύγκριση με τα λιπαρά οξέα μέσης αλύσου και τους υδατάνθρακες (*Sukhotnik et al, 2005*). Εξάλλου, πειραματικές έρευνες έχουν καταδείξει ότι η πρώιμη έκθεση σε δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά δύναται να επιταχύνει την εντερική ανάπτυξη μετά από μαζική εντερεκτομή σε επίμυες (*Sukhotnik et al, 2004*). Η αναλογία των υδατανθράκων προς τα λίπη πρέπει να κυμαίνεται από 6:4 έως 5:5, έτσι ώστε η συνολικά παρεχόμενη ενέργεια να είναι σε αντιστοιχία με την κατανάλωση ενέργειας εν ηρεμία (*Weiming et al, 2002*).

Οι ασθενείς με ΣΒΕ που έχουν διατηρήσει το κόλον έχουν την προδιάθεση για ανάπτυξη υπεροξαλουρίας, νεφρασβέστωσης και νεφρολιθίασης από το οξαλοξικό ασβέστιο. Κατά συνέπεια, η δίαιτα των ασθενών αυτών πρέπει να είναι φτωχή σε

οξαλοξικά. Η υπεροξαλουρία μπορεί επίσης να αναπτυχθεί σε ασθενείς χωρίς κόλον εξαρτώμενους από ΟΠΔ. Αυτό σχετίζεται με το μεταβολισμό της βιταμίνης C σε οξαλοξικά στο διάλυμα της ΟΠΔ, παρουσία φωτός. Γι' αυτό τα διαλύματα ΟΠΔ που περιέχουν βιταμίνη C πρέπει να αποφεύγονται σε αυτούς τους ασθενείς.

Οι περισσότεροι ασθενείς χρήζουν ΟΠΔ, ως συμπλήρωμα της εντερικής τους διατροφής, τουλάχιστον από το πρώτο στάδιο. Η ΟΠΔ πρέπει να χορηγείται με ρυθμό 25 με 30 kcal/kg/d στους ενήλικες, και με ακόμη μεγαλύτερο ρυθμό ενεργειακής υποστήριξης στα παιδιά. Η δεξτρώση είναι ο πιο κοινός υδατάνθρακας που χρησιμοποιείται και πρέπει να χορηγείται με ρυθμό έως 5 με 7 mg/min, με καθημερινές μετρήσεις των επιπέδων γλυκόζης αίματος και προσθήκη ινσουλίνης στο διάλυμα ΟΠΔ εφόσον απαιτείται (*Burke et al, 1979*). Η πρωτεΐνη πρέπει να χορηγείται με μορφή αμινοξέων με συχνότητα 1 με 1.5 g/kg/d για τους ενήλικες και ακόμα περισσότερο για τα νεογνά και τα παιδιά, σύμφωνα με το ιδανικό βάρος σώματος. Τα λιπίδια χορηγούμενα πρέπει να αποδίδουν το 20 με 30% των ενεργειακών απαιτήσεων, ενώ μεγαλύτερη ποσότητα λιπιδίων πρέπει να χρησιμοποιείται σε περίπτωση δυσανεξίας στη γλυκόζη ή άλλων προβλημάτων. Οι προσπάθειες πρέπει να επικεντρώνονται στη σταδιακή απεξάρτηση των ασθενών με επαρκές μήκος εντέρου από την ΟΠΔ, έχοντας πάντοτε στο νου ότι η προσαρμογή μπορεί να διαρκέσει έως 1 με 2 χρόνια. Οι ασθενείς που δύνανται να εξέλθουν πρέπει να υπόκεινται σε εκπαίδευση χρήσης της ΟΠΔ. Οι ασθενείς ενθαρρύνονται να διατηρούν στο σπίτι τους ψυγείο αποκλειστικά για τη συντήρηση της ΟΠΔ. Πρέπει να λαμβάνουν οδηγίες πως να προετοιμάζουν τα διαλύματα, πως να περιποιούνται τον καθετήρα και να κάνουν αλλαγές και πως να χρησιμοποιούν την ενδοφλέβια αντλία. Η έγχυση ΟΠΔ πρέπει να περιορίζεται σε νυχτερινή χορήγηση πριν την έξοδο του ασθενούς. Ο θεράπων ιατρός και το εκπαιδευμένο νοσηλευτικό προσωπικό

πρέπει να επαγρυπνούν για επιπλοκές από τη μακροχρόνια χρήση ΟΠΔ, όπως θρομβώσεις, λοιμώξεις από τον καθετήρα και μεταβολικές διαταραχές (Buchman, 2001). Ο σωστά συντηρούμενος καθετήρας πρέπει να μένει στη θέση του όσο καιρό χρησιμοποιείται ΟΠΔ.

Οι ασθενείς που διακόπτουν την ΟΠΔ, αλλά ακόμα χρειάζονται να προσλαμβάνουν παρεντερικά τα 2/3 των θρεπτικών αναγκών τους πρέπει να υποβάλλονται σε προσδιορισμό της τιμής στο αίμα των ιχνοστοιχείων (Zn, Cu, Se) και των λιποδιαλυτών βιταμινών κάθε 3 με 4 μήνες. Η βιταμίνη Κ δεν συμπεριλαμβάνεται πάντα στα διαλύματα ΟΠΔ και γι'αυτό ο χρόνος προθρομβίνης πρέπει να ελέγχεται τακτικά, ειδικά σε ασθενείς με μικρό υπολειπόμενο μήκος παχέος εντέρου.

1.8.3. Θρεπτικά συστατικά και αυξητικοί παράγοντες που ρυθμίζουν την προσαρμογή

Πολλά διαιτητικά και ενδοναυτικά συστατικά, ορμονικοί μεσολαβητές και ποικίλα πεπτίδια- αυξητικοί παράγοντες δρουν ρυθμιστικά στην ανταπόκριση του υπολειπόμενου εντέρου. Τα θρεπτικά αυτά στοιχεία διεγείρουν την εντερική δομή και λειτουργία παρέχοντας στα κύτταρα του βλεννογόνου τα απαραίτητα συστατικά για τη σύνθεση βασικών μορίων (Ziegler et al, 1996). Για παράδειγμα, οι πολυαμίνες είναι μόρια ουσιώδη για την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση και συντίθενται από την ορνιθίνη. Οι διαλυτές ίνες και τα λιπαρά οξέα μικράς αλυσού είναι σημαντικά καύσιμα για τα εντεροκύτταρα.

Η γλουταμίνη είναι ένα μη βασικό αμινοξύ που χρησιμοποιείται ως κύρια πηγή ενέργειας για τα εντεροκύτταρα και ως συστατικό για τη σύνθεση των πυρηνικών οξέων (Van der Hulst et al, 1993). Είναι ουσιώδες συστατικό για το

έντερο και οι ασθενείς με μαζικές εντερεκτομές παρουσιάζουν μείωση της γλουταμίνης (*Darmaun et al, 1991*). Δεν υπάρχει σαφές πλεονέκτημα από τη χρήση της γλουταμίνης σε ασθενείς με ΣΒΕ. Φαίνεται πως βελτιώνει την απορρόφηση των ηλεκτρολυτών, αλλά δεν έχει καμία επίδραση στην απορρόφηση μακρομορίων ή στη μορφολογία του εντέρου (*Scolapio et al, 1997; Szkudlarek et al, 2000*). Χορηγείται από την παρεντερική οδό σε ασθενείς που λαμβάνουν ΟΠΔ και από την εντερική οδό σε ασθενείς που σιτίζονται από το στόματος. Άλλα συστατικά έχει βρεθεί πως έχουν αρνητική επίδραση στην προσαρμογή του εντέρου. Η L-αργινίνη, ένας ανοσοδιεγερτικός παράγοντας που χρησιμοποιείται για την πρόληψη των σηπτικών επιπλοκών, μπορεί να έχει αρνητική επίδραση και γι'αυτό πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή στο ΣΒΕ (*Czernichow et al, 1997*).

Υπάρχει ένα σύνολο πεπτιδίων-αυξητικών παραγόντων, όπως ο insulin-like-growth factor 1 (IGF-1) ή γενετικοί αυξητικοί παράγοντες, όπως η αυξητική ορμόνη, που χρησιμοποιούνται ως διεγερτικοί παράγοντες στην εντερική υπερπλασία και προσαρμογή. Μεταξύ των πεπτιδίων- αυξητικών παραγόντων μερικοί κατέχουν ενδιαφέρουσες ιδιότητες (*Πίνακας 1*). Για παράδειγμα ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας α (transforming growth factor α- TGFα) έχει προταθεί ως σημαντικός μεσολαβητής για τον πολλαπλασιασμό των επιδερμικών και επιθηλιακών κυττάρων. Οι Falcone και συνεργάτες (*Falcone et al, 2000*) υποστήριξαν ότι η χορήγηση TGFα σε ποντικούς 3 ημέρες μετά την εντερεκτομή διέγειρε την εντεροκυτταρική και εντερική προσαρμογή. Επιπρόσθετα, στο συγκεκριμένο ζωικό μοντέλο ΣΒΕ η φυσιολογική προσαρμογή σχετίστηκε με μία αύξηση 30% του ειλεϊκού TGFα mRNA, ανεξαρτήτως από την εξωγενή χορήγηση TGFα. Σε άλλη μελέτη, οι Sukhotnik και συνεργάτες (*Sukhotnik et al, 2002*) προσδιόρισαν την επίδραση του TGFα ως τροφικού εντερικού παράγοντα σε αρουραίους που έχουν υποστεί ΣΒΕ. Υψηλές

δόσεις TGF α (75 $\mu\text{g/kg/d}$) διέγειραν σημαντικά την εντερική προσαρμογή. Η επίδρασή του αποδείχτηκε πιο σημαντική στον ειλεό, όπου παρατηρήθηκε αύξηση του ύψους των θηλών και του βάθους των κρυπτών. Ο συνδυασμός της αύξησης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της μείωσης του κυτταρικού θανάτου μέσω της απόπτωσης οδήγησε στην αύξηση της εντεροκυτταρικής μάζας.

Σε μία άλλη μελέτη, επίμυες τρεφόμενοι μέσω γαστροστομίας μετά από εκτομή του 80% του λεπτού εντέρου έλαβαν μέσω έγχυσης 2.4 mg/kg/d IGF-1 για 7 ημέρες. Η έγχυση IGF-1 οδήγησε σε μία μέτρια αύξηση της ειλεϊκής βλεννογόνιας ανάπτυξης (Ziegler *et al*, 1998). Επιπρόσθετα, η χορήγηση 6.25 $\mu\text{g/kg/h}$ επιδερμικού αυξητικού παράγοντα σε επίμυες που έχουν υποστεί εκτομή του 75% του λεπτού εντέρου, συνέτεινε στην αύξηση του βλεννογόνιου πάχους κατά τον πρώτο μήνα μετά την εκτομή (Chaet *et al*, 1994). Σε μία άλλη πειραματική μελέτη σε επίμυες που είχαν υποστεί εκτομή του 75% του λεπτού εντέρου χορηγήθηκαν 3 mg/kg/d κερατινοκυτταρικού αυξητικού παράγοντα, τα οποία διέγειραν τη βλεννογόνια ανάπτυξη και αύξησαν τη βιοχημική δραστηριότητα του εντερικού επιθηλίου (Johnson *et al*, 2000).

Εκτός από τους αυξητικούς παράγοντες, και οι ορμονικοί μεσολαβητές φαίνεται να έχουν κάποια υπερπροσαρμοστική δραστηριότητα. Η επίδραση της αυξητικής ορμόνης στο υπολειπόμενο έντερο τίθεται υπό συζήτηση. Πειραματικά στοιχεία έδειξαν ότι η εξωγενής χορήγηση αυξητικής ορμόνης διεγείρει την επιθηλιακή υπερπλασία και αυξάνει την απορρόφηση νερού, ηλεκτρολυτών και θρεπτικών συστατικών (Shulman *et al*, 1992). Επιπρόσθετα, η προσοχή έχει εστιαστεί στο συνδυασμό υψηλής δόσης αυξητικής ορμόνης και χορήγησης γλουταμίνης στο κλινικό πεδίο. Οι Byrne και συνεργάτες (Byrne *et al*, 1995) ανέφεραν ότι 3 εβδομάδες χορήγησης υψηλής δόσης αυξητικής ορμόνης 0.14 mg/kg/d σε συνδυασμό με

γλουταμίνη και μία τροποποιημένη διαίτα (με αύξηση του περιεχομένου σε ίνες) οδήγησε σε βελτίωση κατά 30% της απορρόφησης υδατανθράκων και πρωτεϊνών. Σε μία πρόσφατη τυχαιοποιημένη μελέτη οι ερευνητές απέδειξαν ότι μία παρόμοια διαίτα μπορεί κάτω από περιστάσεις να ελαττώσει τις ανάγκες για συνεχή έγχυση ΟΠΔ (*Byrne et al, 2005*). Ο Scolapio (*Scolapio, 1999*) χρησιμοποιώντας ένα συνδυασμό αυξητικής ορμόνης και γλουταμίνης και μία τροποποιημένη διαίτα σε 8 ασθενείς με ΣΒΕ που ελάμβαναν ΟΠΔ, απέδειξε ότι αυξήθηκε σημαντικά το βάρος και η μάζα του σώματος, μειώθηκε το εκατοστιαίο ποσοστό λίπους και ελέγχθηκε το περιφερικό οίδημα. Σε αυτή τη μελέτη, η απορρόφηση λίπους και αζώτου αυξήθηκε μόλις κατά 3% και 4% αντίστοιχα. Αξίζει να σημειωθεί ότι η δόση αυξητικής ορμόνης που χρησιμοποιήθηκε σε όλες αυτές τις μελέτες ήταν εξαιρετικά υψηλή, περίπου 20 φορές από τη συνήθη θεραπεία υποκατάστασης και σημειώθηκαν σημαντικές παρενέργειες. Οι Seguy και συνεργάτες (*Seguy et al, 2003*) δοκίμασαν μία χαμηλή δόση αυξητικής ορμόνης 0.05 mg/kg/d για 3 εβδομάδες σε 12 ασθενείς εξαρτώμενους από ΟΠΔ. Σε αυτή τη μελέτη η πρόσληψη ενέργειας βελτιώθηκε σημαντικά μαζί με το δείκτη μάζας σώματος και τις άλλες παραμέτρους της εντερικής προσαρμογής. Οι θετικές επιδράσεις της αυξητικής ορμόνης φαίνονται πως είναι ανεξάρτητες από τον τύπο της εντερικής αναστόμωσης. Παρόλ' αυτά, καλύτερη απορρόφηση σημειώθηκε στους ασθενείς με τελική νηστιδοστομία ή νηστιδοκολικό τύπο αναστόμωσης. Προϋποθέσεις για τη θετική επίδραση της αυξητικής ορμόνης είναι η υπερθερμιδική διαίτα και η απουσία κακής θρέψης. Ο μηχανισμός δράσης της αυξητικής ορμόνης στην εντερική προσαρμογή φαίνεται πως είναι η αλληλεπίδραση της αυξητικής ορμόνης (που προάγει την κυτταρική διαφοροποίηση) και του IGF-1 (που διεγείρει την κλωνική ανάπτυξη των διαφοροποιημένων αυτών κυττάρων) (*Green et al, 1985*).

Το GLP-2 είναι μία άλλη ουσία, που έχει θετική επίδραση στην προσαρμογή. Οι Jeppesen και συνεργάτες (*Jeppesen et al, 2001*) χορήγησαν GLP-2 σε 8 ασθενείς με λειτουργικό ΣΒΕ και παρατήρησαν αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε συνδυασμό με μείωση της κυτταρικής απόπτωσης. Πιο πρόσφατα, η ίδια ομάδα χορήγησε τεδουγλουτίδη (ALX-0600), ένα διπεπτίδιο ανθεκτικό στην πεπτιδάση IV, ανάλογο του GLP-2, σε ασθενείς με ΣΒΕ σε τρεις δόσεις και για χρονικό διάστημα τριών εβδομάδων. Βρέθηκε λοιπόν, σημαντική αύξηση του ύψους των λαχνών και του βάθους των κρυπτών, καθώς και του μιτωτικού δείκτη του εντερικού επιθηλίου ασθενών με τελική νηστιδοστομία (*Jeppesen et al, 2005*).

1.8.4. Φάση Διατήρησης

Οι περισσότεροι ασθενείς με ΣΒΕ έρχονται συνήθως αντιμέτωποι με μία μέση δυσαπορρόφηση της τάξης του 30% των πεπτώμενων θρεπτικών συστατικών. Αυτό προϋποθέτει ότι για απορρόφηση της τάξης των 30 με 40 kcal/kg/d, πρέπει να υποστούν πέψη 45 με 60 kcal/kg/d, τα οποία πρέπει να κατανεμηθούν σε πολλαπλά μικρά γεύματα, που θα περιέχουν την κατάλληλη ποσότητα βιταμινών και ιχνοστοιχείων. Πρέπει να χορηγείται από του στόματος ασβέστιο (800 με 1200 mg/d) όχι μόνο προς αντικατάσταση της μειωμένης απορρόφησής του, αλλά και για την πρόληψη της αυξημένης απορρόφησης οξαλοξικών, που οδηγεί σε νεφρολιθίαση. Εάν δεν έχει διατηρηθεί ο τελικός ειλεός, πρέπει να χορηγείται βιταμίνη B12 παρεντερικά ή ενδορινικά.

Η σύγχρονη προσέγγιση της διαιτητικής φροντίδας των ασθενών με ΣΒΕ στη φάση διατήρησης περιλαμβάνει δίαιτες πλούσιες σε λίπος, οι οποίες πλεονεκτούν σε παροχή ενέργειας από τις δίαιτες φτωχές σε λίπος, παρόλο που το πρώτο μπορεί να οδηγήσει σε στεατόρροια (*Allard et al, 1989*). Επιπρόσθετα, μικρές ποσότητες

τριγλυκεριδίων μέσης αλύσου απορροφώνται από το κόλον και μπορούν να συμπεριληφθούν στη δίαιτα για πρόσθετη ενεργειακή παροχή ασθενών με διατήρηση του κόλου (*Jeppesen et al, 1998*).

Η φαρμακευτική αγωγή στη φάση διατήρησης πρέπει να εμπεριέχει τα ίδια φάρμακα με τις δύο προηγούμενες φάσεις, όπως παράγοντες που μειώνουν τη γαστρική υπεροξύτητα και παράγοντες που ελαττώνουν την εντερική διόδο. Η οκτρεοτίδη μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί σε ασθενείς με ΣΒΕ και μικρό υπόλοιπο εντέρου, καθώς ελαττώνει το ενδονικό φορτίο υγρών (*Rodrigues et al, 1989; Nightingale et al, 1990*).

Αντιβιοτικά ευρέος φάσματος βοηθούν στον έλεγχο της βακτηριακής υπερανάπτυξης. Πρέπει να χρησιμοποιούνται σε σταθερή βάση, ειδικά σε ασθενείς που λαμβάνουν ΟΠΔ, προς ελάττωση του κινδύνου ανάπτυξης χρόνιας ηπατικής βλάβης.

Η συνδυασμένη χρήση ειδικής δίαιτας γλουταμίνης και αυξητικής ορμόνης μπορεί να καταστήσει ικανούς προς λήψη εντερικής διατροφής ακόμα και ασθενείς με υπόλοιπο εντέρου μικρότερου από 50 εκ. Παρόλ' αυτά υπάρχει ακόμα ένας σημαντικός αριθμός ασθενών που δεν μπορούν να περιοριστούν μόνο στην εντερική σίτιση και απαιτούν τη συγχρόνηση ΟΠΔ (*Messing et al, 1995*). Ακόμα και κάτω από συνεχή έγχυση ΟΠΔ οι ασθενείς έχουν ανάγκη την τακτική έκθεση του υπολειπόμενου εντερικού επιθηλίου σε θρεπτικά συστατικά, απαραίτητη για να διατηρηθεί η απορροφητική ικανότητα. Η χορήγηση ΟΠΔ στο σπίτι απαιτεί την εντατική εκπαίδευση του ασθενούς και νοσηλευτική φροντίδα. Κάτω από συνεχή υποστήριξη, επιπλοκές όπως λοίμωξη, απόφραξη, θρόμβωση κτλ μπορούν να μειωθούν έως ένα αποδεκτό επίπεδο (*Howard et al, 1995*). Η κατ' οίκον χορήγηση ΟΠΔ είναι πιο οικονομική από τη νοσοκομειακή, αλλά έχει σοβαρές επιπλοκές και

απαιτεί στενή επίβλεψη από μία εξειδικευμένη ομάδα επαγγελματιών υγείας (Freshwater et al, 2005).

1.8.5. Επιπλοκές από τη μακρόχρονη χορήγηση ΟΠΔ

Η μακρόχρονη χορήγηση ΟΠΔ έχει πολλαπλές παρενέργειες, που αφορούν διάφορα συστήματα και όργανα. Επιπλοκές από τα χοληφόρα είναι ιδιαίτερα συχνές εξαιτίας της μειωμένης εντερικής πρόσληψης, που συμβάλλει στην ατονία της κύστης και την ανάπτυξη χολολίθων και λάσπης. Οι σχηματιζόμενοι χολόλιθοι είναι 3 φορές πιο συχνοί στους ασθενείς που έχουν υποστεί εντερεκτομή και συντίθενται συνήθως από χολερυθρινικό ασβέστιο (Pitt et al, 1983). Ο ρόλος της χολοκυστοκίνης (CCK) παραμένει αμφίβολος. Οι Ling και συνεργάτες (Ling et al, 2001) υποστήριξαν ότι σε ασθενείς που λαμβάνουν ΟΠΔ για 5 με 19 χρόνια μετά από μαζική εντερεκτομή, η έκκριση CCK ήταν σημαντικά μειωμένη, το οποίο προδιαθέτει σε χολική στάση και σχηματισμό χολολίθων.

Οι επιπλοκές από το ήπαρ είναι επίσης συχνές σε ασθενείς εξαρτώμενους από ΟΠΔ. Στεάτωση μερικές φορές σε συνδυασμό με ηπατίτιδα, χολοστατική ηπατική νόσος, ίνωση ακόμα και κίρρωση μπορούν να παρατηρηθούν σε αυτούς τους ασθενείς (Stanko et al, 1987; Briones et al, 1995). Η προϊούσα χολοστατική ηπατική νόσος μπορεί να οδηγήσει σταδιακά σε ηπατική ανεπάρκεια, που αποτελεί την πιο σοβαρή επιπλοκή της μακροχρόνιας χορήγησης ΟΠΔ. Είναι αξιοσημείωτο ότι το 15% των θανάτων των ασθενών με ΣΒΕ κατά την πρώτη πενταετία οφείλεται στην ηπατική νόσο. Επιπρόσθετα, το 50% όλων των θανάτων σε παιδιά που λαμβάνουν ΟΠΔ οφείλεται σε ηπατική ανεπάρκεια (Kelly, 1998). Οι μηχανισμοί της βλάβης παραμένουν ακόμη αδιευκρίνιστοι. Η ηπατική νόσος φαίνεται να οφείλεται κυρίως στη δυσανορρόφηση ή ανεπαρκή παραγωγή των θρεπτικών συστατικών που

απαιτούνται για την ομαλή ηπατική λειτουργία, παρά από την απευθείας τοξική επίδραση της ΟΠΔ (*Buchman et al, 1992;2001*). Η υπόθεση της άμεσης ηπατοτοξικότητας της παρεντερικής διατροφής ή της ανεπάρκειας συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών θεωρείται για την ώρα ανεπαρκής. Διαταραχές της εντερικής κινητικότητας που οδηγούν σε ενδωλική στάση και η απώλεια του GALT (gut-associated lymphoid tissue) έχουν τελευταία προταθεί ως πιθανοί βλαπτικοί παράγοντες για το ήπαρ. Όλοι οι παραπάνω παράγοντες οδηγούν σταδιακά σε χρόνια ηπατική βλάβη και τελικά σε ηπατική ανεπάρκεια.

Ακόμα ένα σημαντικό πρόβλημα που σχετίζεται με τη μακροχρόνια χορήγηση ΟΠΔ είναι η ανάπτυξη λοίμωξης σχετιζόμενης με τον καθετήρα που οδηγεί σε απόφραξη του καθετήρα και θρόμβωση της κεντρικής φλέβας. Οι ασθενείς που λαμβάνουν μακροχρόνια ΟΠΔ νοσηλεύονται κατά μέσο όρο μία φορά το χρόνο σε νοσοκομείο εξαιτίας λοίμωξης από τον καθετήρα (*Oley Foundation, 1994*). Οι *Messing* και συνεργάτες (*Messing et al, 1999*) ανέφεραν ότι το 31% των θανάτων σε ασθενείς που λαμβάνουν ΟΠΔ σχετίζεται με τη σήψη. Η κατάλληλη φροντίδα της γραμμής και η εμπειρία μπορούν να ελαττώσουν τη συχνότητα των λοιμώξεων από τον καθετήρα.

1.9. Συμπεράσματα

Οι ασθενείς μετά από εκσεσημασμένη εντερεκτομή εμφανίζουν σημαντική δυσαπορρόφηση και έρχονται αντιμέτωποι με μία περίπλοκη σειρά ιατρικών καταστάσεων, που συνιστούν το ΣΒΕ. Ο προσεκτικός χειρισμός των διαταραχών υγρών και ηλεκτρολυτών κατά το πρώιμο στάδιο της νόσου είναι υποχρεωτικός για τη σταθεροποίηση του ασθενούς. Επακόλουθα, απαιτείται η σταδιακή αύξηση της έκθεσης σε θρεπτικά συστατικά για την επαγωγή της εντερικής προσαρμογής

(Πίνακας 2). Ενίσχυση της διαδικασίας εντερικής προσαρμογής μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση αυξητικών ορμονών και παραγόντων. Η πρόωμη διάγνωση και αντιμετώπιση επιλοκών όπως η σήψη του καθετήρα, η βακτηριακή υπερανάπτυξη του εντέρου και η σχετιζόμενη με την παρεντερική διατροφή ηπατική δυσπραγία μπορούν να βελτιώσουν σημαντικά την πρόγνωση.

Πίνακας 1. Μόρια που ρυθμίζουν την εντερική προσαρμογή. Πειραματικές και κλινικές μελέτες που υποστηρίζουν την επάρκειά τους.

Μόρια	Επιδράσεις στην εντερική προσαρμογή
Transforming growth factor-α	Η χορήγηση TGFα σε ποντίκια 3 ημέρες μετά την εντερεκτομή, διεγείρει τα εντεροκύτταρα και την εντερική προσαρμογή (<i>Sukhotnik et al, 2004</i>). Υψηλές δόσεις TGFα οδήγησαν σε αύξηση του ύψους των θηλών και του βάθους των κρυπτών και αύξησαν την εντεροκυτταρική μάζα (<i>Weiming et al, 2002</i>).
Insulin-like growth factor-1	Η έγχυση IGF-1 σε επίμυες με γαστροστομία σίτισης οδήγησε σε σημαντική αύξηση της ειλεϊκής βλεννογονικής ανάπτυξης (<i>Burke et al, 1979</i>).
Epidermal growth factor	Η αντιμετώπιση των επίμυων που υπέστησαν 75% εντερεκτομή με 6.25 μg/kg/h EGF αύξησε το βλεννογονικό πάχος 1 μήνα μετά την εντερεκτομή (<i>Chaet et al, 1994</i>).
Keratinocyte growth factor	Η χορήγηση 3 mg/kg/d KGF σε επίμυες που υπέστησαν 75% εντερεκτομή διεγείρει τη βλεννογονική ανάπτυξη (<i>Johnson et al, 2000</i>).
Growth hormone	Συνδυασμός GH-γλουταμίνης και τροποποιημένης διαίτας σε 8 ασθενείς με ΟΠΔ και ΣΒΕ αύξησε το βάρος του σώματος και την ιστική μάζα σώματος (<i>Scolapio et al, 1997; Szkudlarek et al, 2000</i>). Μία χαμηλή δόση GH για 3 εβδομάδες σε 12 ασθενείς με ΟΠΔ βελτίωσε την ενεργειακή πρόσληψη και τις περισσότερες παραμέτρους της εντερικής προσαρμογής (<i>Czernichow et al, 1997</i>).
Glucagon-like peptide-2	Χορήγηση GLP-2 σε 8 ασθενείς με λειτουργικό ΣΒΕ οδήγησε σε αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (<i>Sukhotnik et al, 2002</i>).

(*Misiakos et al, 2007*)

Πίνακας 2. Θεραπευτικός αλγόριθμος Συνδρόμου Βραχέος Εντέρου.

Οξεία Φάση

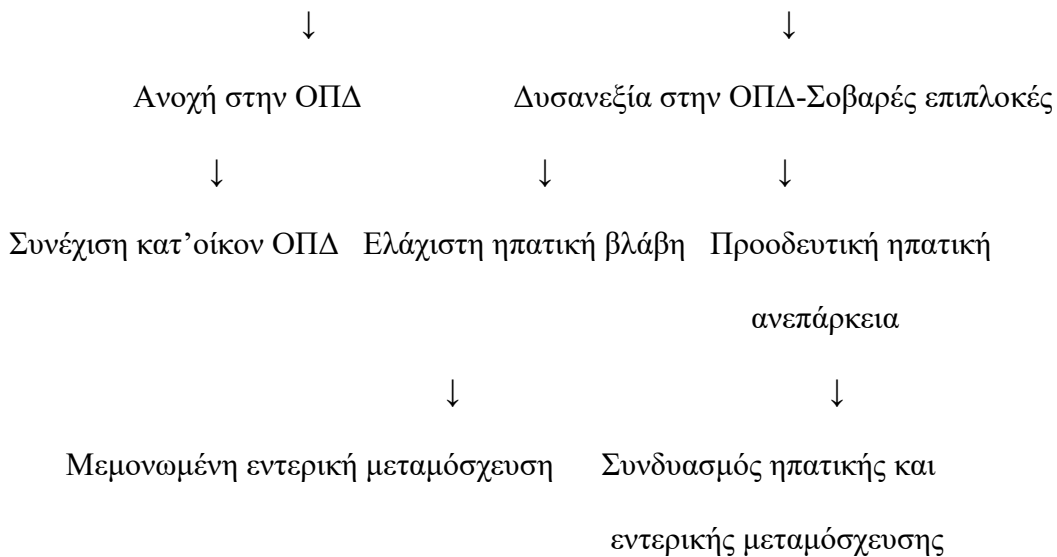
- Ολική Παρεντερική Διατροφή (ΟΠΔ)
- Ισότονα Διαλύματα άλατος και γλυκόζης
- Σταδιακή προσαρμογή σε εντερική διατροφή συνεχούς έγχυσης
 - Από του στόματος σίτιση

Φάση προσαρμογής

- Απεξάρτηση από τη συνεχή παρεντερική χορήγηση
 - Έναρξη από του στόματος σίτισης
 - Αυξητικοί παράγοντες

Φάση διατήρησης

Ανικανότητα πλήρους απεξάρτησης από ΟΠΔ μετά μήνες ή χρόνια



(Misiakos et al, 2007)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΔΥΝΗΤΙΚΑ ΟΦΕΛΗ ΤΩΝ ΠΡΟ- ΚΑΙ ΠΡΕΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΤΟΝ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΦΡΑΓΜΟ ΣΤΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΤΟΥ ΒΡΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

2.1. Περίληψη

Ο μηχανισμός που διαταράσσει τη λειτουργία του εντερικού φραγμού σε ασθενείς με σύνδρομο βραχέος εντέρου είναι ελάχιστα κατανοητός και περιλαμβάνει μεταξύ άλλων, τη μειωμένη εντερική κινητικότητα που οδηγεί σε βακτηριακή υπερανάπτυξη, τη μείωση του σχετιζόμενου με το έντερο λεμφικού ιστού (gut associated lymphoid tissue) ως επακόλουθο της απώλειας εντερικού μήκους, την αναστολή της εντερικής ανοσίας του λεπτού εντέρου από τη χορήγηση ενδοφλέβιας ολικής παρεντερικής διατροφής και αλλαγές στην εντερική διαπερατότητα των μακρομορίων. Καινοτόμες θεραπευτικές στρατηγικές (διαιτητικές και χειρουργικές) έχουν προταθεί για την πρόληψη και τη βελτίωση της πρόγνωσης της συγκεκριμένης αυτής νόσου. Τα πρεβιοτικά και τα προβιοτικά αποτελούν ένα διαιτητικό συμπλήρωμα, με ήδη γνωστές επιδράσεις στον εντερικό σωλήνα και ιδιαίτερα στο κόλον· είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά στη διατήρηση υγιούς εντερικής μικροχλωρίδας και επηρεάζουν μεταβολικούς, τροφικούς και προστατευτικούς μηχανισμούς, όπως η παραγωγή λιπαρών οξέων μικράς αλύσου, που επηρεάζουν με τη σειρά τους τον επιθηλιακό κυτταρικό μεταβολισμό, τον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση. Τα προβιοτικά έχουν προταθεί στους ασθενείς πάσχοντες από σύνδρομο βραχέος εντέρου (ΣΒΕ) με σκοπό τη μείωση της βακτηριακής υπερανάπτυξης και την πρόληψη της βακτηριακής αλλόθεσης, δύο σημαντικών παθογενετικών μηχανισμών του ΣΒΕ. Παρακάτω αναλύονται οι κλινικές και πειραματικές έρευνες που υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία και αφορούν στη χορήγηση των προβιοτικών στην

επιπλεγμένη αυτή ομάδα ασθενών, σε σχέση με το κλινικό φάσμα και τις παθοφυσιολογικές πτυχές του συνδρόμου. Τα κλινικά στοιχεία που προκύπτουν από αυτήν την έρευνα, καταδεικνύουν το γεγονός, ότι είναι δύσκολο τελικά να χαρακτηρίσουμε τα προβιοτικά ως προληπτικό ή θεραπευτικό μέσο. Παρόλα αυτά παραμένει κάθε φορά πρόκληση η διερεύνηση της αλληλεπίδρασης της βακτηριακής χλωρίδας, του εντερικού φραγμού και των προβιοτικών, σύμφωνα με τις τελευταίες γνώσεις.

2.2. Εισαγωγικά

Η χειρουργική θεραπεία αποτελεί σήμερα σημαντικό κομμάτι της αντιμετώπισης διαφόρων ανωμαλιών (συγγενών ή επίκτητων) ή κακοηθειών του λεπτού εντέρου στον άνθρωπο και συχνά εφαρμόζεται ως παρηγορητική θεραπεία σε διάφορες άλλες ανίατες ασθένειες. Η απώλεια, παρόλα αυτά, σημαντικού μέρους της λειτουργικής και απορροφητικής επιφάνειας του λεπτού εντέρου οδηγεί σε μία κατάσταση υποθρεψίας και δυσαπορρόφησης, που περιγράφεται ως σύνδρομο βραχέος εντέρου (*Misiakos et al, 2007*).

Παρόλο που η παθογένεση του ΣΒΕ δεν είναι ξεκάθαρη, εικάζεται ότι πρόκειται για μία διεργασία προσαρμογής, όπου συμμετέχουν ένας μεγάλος αριθμός κυτταρικών τύπων, διαδραστικών σηματοδοτικών μορίων, συμπεριλαμβανομένων των κυτταροκινών και των αυξητικών παραγόντων, καθώς και διάφορα μόρια της ενδοθηλιακής κυτταρικής επιφάνειας (*Spencer et al, 2005*). Ως αποτέλεσμα, το σύνδρομο αυτό αποτελεί πολύπλοκη διαδραστική διεργασία μεταξύ μίας πληθώρας παθοφυσιολογικών μηχανισμών, που περιλαμβάνουν την κυτταρική απόπτωση και τον πολλαπλασιασμό, την επιθηλιακή αναγέννηση και νεοαγγειογένεση, την

ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, την ιστική αναδόμηση και τη μεταβολή της βακτηριακής χλωρίδας (*Quiro's-Tejeira et al, 2004*).

Σχετικές ενδείξεις καταδεικνύουν ότι τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά αποτελούν πολλά υποσχόμενους παράγοντες για την πρόληψη και τον έλεγχο πολλών γαστρεντερικών διαταραχών (*Gratz et al, 2010*). Πρόσφατες πειραματικές μελέτες σε ζωικά πρότυπα καθώς και κλινικές μελέτες σε ασθενείς με συμπτώματα συνδρόμου βραχέος εντέρου, κατέδειξαν ότι η από του στόματος χορήγηση προβιοτικών και πρεβιοτικών μπορεί αποτελεσματικά να ελέγξει την έκταση της βακτηριακής αλλόθεσης (BA), η οποία αποτελεί το βασικό παθοφυσιολογικό μηχανισμό του ΣΒΕ (*Gonzalez et al, 2003*).

Παρά το γεγονός πως υπάρχουν λίγα πειραματικά στοιχεία και περιορισμένη εμπειρία σε κλινικές μελέτες, οι εργασίες αυτές παρέχουν ικανοποιητικά στοιχεία για την πιθανή προστατευτική δράση των προβιοτικών στην επαγόμενη εντερική βλάβη, όχι μόνο από πλευράς χειρουργικής παρέμβασης και υποκείμενης παθολογίας, αλλά και από τη χρήση της ολικής παρεντερικής διατροφής (ΟΠΔ). Την ώρα που οι μηχανισμοί της αλληλεπίδρασης ΣΒΕ και προβιοτικών παραμένουν υπό διερεύνηση, η υπόθεση της υποκείμενης ενίσχυσης του κυτταρικού ανοσολογικού αμυντικού μηχανισμού, επιβάλλεται να διερευνηθεί διεξοδικά.

Τα στοιχεία της εκτεταμένης διεθνούς βιβλιογραφικής ανασκόπησης που παρουσιάζονται στη συνέχεια στοχεύουν καταρχήν στη διευκρίνιση των ορισμών του ΣΒΕ, της βακτηριακής αλλόθεσης και των προ-πρε- και συμβιοτικών, όρων που συχνά χρησιμοποιούνται στην παιδιατρική και τη χειρουργική του γαστρεντερικού. Ειδικότερα, θα δοθεί έμφαση στο γεγονός ότι περαιτέρω έρευνα σε κλινικό και πειραματικό επίπεδο επιβάλλεται να διενεργηθεί, με σκοπό την κατανόηση του ακριβούς ρόλου των προβιοτικών, προστατευτικού ή προληπτικού, στο ΣΒΕ.

2.3. Σύνδρομο Βραχέος Εντέρου

Η κριτική μείωση της λειτουργικής εντερικής μάζας κάτω από το ελάχιστο απαιτούμενο ποσό για επαρκή πέψη και απορρόφηση, ώστε να ικανοποιούνται οι απαιτήσεις του οργανισμού σε θρεπτικά στοιχεία και υγρά για τη συντήρηση στους ενήλικες και την ανάπτυξη στα παιδιά, χαρακτηρίζεται ως εντερική ανεπάρκεια (Goday, 2009). Αιτίες εντερικής ανεπάρκειας αποτελούν διάφορες νόσοι όπως η συγγενής εντερική ατρησία, η αγγαγγίωση και η γαστρόσχιση, οι νεοπλασίες, η φλεγμονή, η μετακτινική εντερίτιδα, η συστροφή του μεσεντερίου, η μεσεντέρια ισχαιμία και εμβολή, ελλείψεις του κοιλιακού τοιχώματος και η νεκρωτική εντεροκολίτιδα (NEK) σε παιδιά και νεογνά (Cassaccia et al, 2006). Η μαζική εκτομή του λεπτού εντέρου καταλήγει σε μία σειρά συμπτωμάτων και μεταβολικών διαφοροποιήσεων (Sigalet, 2001). Η παθοφυσιολογική διεργασία μετά από την εντερική ανεπάρκεια για τη διατήρηση της εντερικής ανάκαμψης, της θρέψης και της μακροχρόνιας επιβίωσης περιγράφουν το ΣΒΕ.

Η προφανής διαφορά μεταξύ των δύο νόσων (ΣΒΕ, εντερική ανεπάρκεια) είναι ότι το ΣΒΕ σχετίζεται με σημαντική απώλεια απορροφητικής επιφάνειας, ενώ στην εντερική ανεπάρκεια παρατηρείται μη ικανοποιητική απορρόφηση, παρόλο που η εντερική απορροφητική επιφάνεια θα έπρεπε να είναι ικανή στη διατήρηση θετικού ισοζυγίου υγρού, ηλεκτρολυτών και θρεπτικών συστατικών (O'Keefe et al, 2006). Με την εισαγωγή νέων θεραπευτικών μεθόδων στο μέλλον, θα υπάρχει μεγαλύτερο ενδιαφέρον στη διαφοροποίηση των δύο οντοτήτων, καθώς μερικές θεραπείες είναι κατάλληλες για το ένα και όχι για το άλλο. Ένας ασθενής με ΣΒΕ μπορεί να εμφανίζει εντερική ανεπάρκεια, ενώ δεν παρατηρείται σε όλους τους ασθενείς με εντερική ανεπάρκεια ΣΒΕ.

Η βακτηριακή υπερανάπτυξη στο ΣΒΕ φαίνεται να αποτελεί το φαινόμενο που πυροδοτεί το ΣΒΕ και δύναται να συμμετέχει στην εμφάνιση συμπτωμάτων, επιθηλιακής βλάβης και υποθρεψίας (Wessel *et al*, 2007). Η εμφάνισή της σχετίζεται με διαφοροποιήσεις στην εντερική ανατομία, την κινητικότητα και την έκκριση γαστρικών οξέων.

Οι διαφοροποιήσεις αυτές στην εντερική ανατομία κατά τη διάρκεια της χειρουργικής διεργασίας και ιδιαίτερα το υπολειπόμενο μήκος εντέρου, η ανέπαφη ειλεοτυφλική βαλβίδα, η εντερική συνέχεια και η διατήρηση του κόλου είναι σημαντικοί παράγοντες επιβίωσης (Goulet *et al*, 2005). Η ικανότητα του εναπομείναντος εντέρου να προσαρμόζεται μετά από μαζική εντερεκτομή είναι επίσης ιδιαίτερης σημασίας (DiBaise *et al*, 2004). Στο σημείο αυτό, προσαρμογή σημαίνει σταδιακή ανάκαμψη από την εντερική ανεπάρκεια, κατά την οποία το λεπτό έντερο αυξάνει την απορροφητική του επιφάνεια και τη λειτουργική χωρητικότητά του, σε μία προσπάθεια να καλύψει τις ανάγκες μεταβολισμού και ανάπτυξης του οργανισμού. Η εντερική προσαρμογή αποτελεί τον καλύτερο σύμμαχο των ασθενών με ΣΒΕ. Στους ανθρώπους η εντερική ανάκαμψη ξεκινάει 24 με 48 ώρες μετά την εκτομή και περιλαμβάνει μορφολογικές και λειτουργικές αλλαγές του εναπομείναντος εντέρου. Η δομική προσαρμογή περιλαμβάνει την αύξηση της διαμέτρου και του μήκους του εντέρου, την επιμήκυνση των θηλών, την εμβάθυνση των κρυπτών, την αύξηση του εντεροκυτταρικού πολλαπλασιασμού, οδηγώντας τελικά σε αύξηση της εντερικής απορροφητικής επιφάνειας και στην αύξηση του αριθμού των εντεροκυττάρων. Η λειτουργική προσαρμογή περιλαμβάνει μεταβολές στη διαπερατότητα της μεμβράνης και αναβάθμιση των χημικών μεταφορέων, οδηγώντας τελικά στην αύξηση της απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών σε επίπεδο εντεροκυττάρου πλέον. Η δυναμική αυτή διεργασία της εντεροκυτταρικής

αναγέννησης είναι αποτέλεσμα του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της μετακίνησης κυττάρων στον άξονα θηλή- κρύπτη και του θανάτου μέσω της απόπτωσης και του πολλαπλασιασμού (*Juno et al, 2004*). Υπάρχει ένας μεγάλος κορμός εργασιών στη βιβλιογραφία που πραγματεύεται την αλληλεπίδραση μεταξύ του επιθηλιακού κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της τριχοειδικής ανάπτυξης (*Folkman, 2007*). Ειδικότερα στο έντερο, η χορήγηση αγγειογενετικού αυξητικού παράγοντα έχει καταδείξει ότι ευοδώνει την επιθηλιακή ανάπτυξη σε εντερικά μοσχεύματα σε επίμυες (*Lee et al, 2006*). Μία πρόσφατη μελέτη απέδειξε ότι η αναστολή του ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα στο σάλιο, οδήγησε στη μείωση της τριχοειδικής ανάπτυξης και της διεργασίας προσαρμογής μετά από μαζική εντερεκτομή σε επίμυες (*Parvadia et al, 2007*). Παρόλο που η αλληλεπίδραση μεταξύ της τριχοειδικής ανάπτυξης και του εντεροκυτταρικού πολλαπλασιασμού κατά τη διάρκεια της προσαρμογής μετά από εντερεκτομή θα έπρεπε να ήταν εμφανής, το προφίλ αυτής της ανάπτυξης σε σχέση με την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων και την ενεργοποίηση σηματοδοτικών αλληλουχιών παραμένει άγνωστο (*Martin et al, 2009*).

Ανοσολογικές διαφοροποιήσεις είναι επίσης παρούσες κατά τη διάρκεια της διεργασίας προσαρμογής. Σε μία πρόσφατη μελέτη (*Murakami et al, 2007*) παρουσιάστηκε ότι σε καταστάσεις χειρουργικού στρες σε επίμυες που υπέστησαν εντερεκτομή, μειώθηκαν συστηματικά τα CD4⁺ T λεμφοκύτταρα και μειώθηκε επίσης η παραγωγή Th1 κυτταροκινών, χωρίς να παρατηρηθεί όμως αύξηση των Th2 κυτταροκινών. Αυτές οι αλλαγές μπορεί να επηρεάζουν την ανοσολογική άμυνα του ξενιστή και να αυξάνουν την επίπτωση των μετεγχειρητικών λοιμώξεων, αποδεικνύοντας με αυτόν τον τρόπο ότι η εντερεκτομή στους επίμυες είναι ένα χρήσιμο μοντέλο όχι μόνο δυσανορρόφησης, αλλά και χειρουργικού στρες.

Η παθοφυσιολογική διεργασία που πυροδοτεί το ΣΒΕ μπορεί να επηρεάζεται από το θρεπτικό επίπεδο, τη διατροφική οδό και την επάρκεια συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών στη διαίτα. Καθώς η δυνατότητα πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων μειώνεται σημαντικά μετά την εντερεκτομή, το κυριότερο πρόβλημα στην αντιμετώπιση των ασθενών με ΣΒΕ παραμένει η υποθρεψία (*Quiro's-Tejeira et al, 2004*).

Η αντιμετώπιση ασθενών με βακτηριακή υπερανάπτυξη, εντερική ανεπάρκεια και ΣΒΕ παραμένει, κατά το μεγαλύτερο μέρος της, εμπειρική και περιλαμβάνει θεραπεία με αντιβιοτικά και τη διόρθωση σχετιζόμενων θρεπτικών ανεπαρκειών. Ιστορικά, η θνητότητα ήταν σχεδόν καθολική στους ασθενείς με εντερική ανεπάρκεια, πριν από την εισαγωγή της ολικής παρεντερικής διατροφής περί το 1970 (*Diamanti et al, 2008*). Η ΟΠΔ έχει καταστεί επακόλουθα η πρωταρχική αντιμετώπιση της εντερικής ανεπάρκειας, δύναται όμως να σχετίζεται με σοβαρές για τη ζωή επιπλοκές (*Duro et al, 2008*). Οι επιπλοκές αυτές οδηγούν σε θνητότητα 30% των ασθενών με εντερική ανεπάρκεια και πάνω από 50% σε παιδιατρικούς ασθενείς (*Diamanti et al, 2007*). Τα αυξημένα αυτά ποσοστά θνητότητας, ως αποτέλεσμα κυρίως σοβαρής ή υποτροπιάζουσας σήψης από τον κεντρικό φλεβικό καθετήρα, φλεβικής θρόμβωσης με απώλειας της βατότητάς του ή ηπατικής νόσου σχετιζόμενης με την ΟΠΔ (parenteral nutrition associated liver disease), αντιμετωπίστηκαν με την εισαγωγή της επιτυχούς εντερικής μεταμόσχευσης (*Nightingale, 2003*). Σε σοβαρές περιπτώσεις ΣΒΕ η εντερική μεταμόσχευση πρέπει να επιλέγεται όταν δεν είναι διαθέσιμα ή αποτελεσματικά άλλα συντηρητικά ή χειρουργικά μέτρα αντιμετώπισης (*Atalay et al, 2003*). Παρόλο που η επιβίωση των ασθενών συνεχίζει να βελτιώνεται μετά την εντερική μεταμόσχευση (προσφάτως αναφερθείσα επιβίωση έτους 80% και πενταετής 54%), η προ της μεταμόσχευσης θνητότητα παραμένει υψηλότερη από

κάθε άλλη ομάδα ασθενών προς μεταμόσχευση συμπαγούς οργάνου (*Goulet et al, 2006*). Καινοτόμες χειρουργικές, διατροφικές και φαρμακολογικές μέθοδοι αντιμετώπισης σε ασθενείς με ΣΒΕ, αλλάζουν διαρκώς την πρόγνωση της δυσοίωνης αυτής νόσου (*Sukhotnik et al, 2005*). Η στρατηγική της παρεντερικής χορήγησης συστατικών με σκοπό την πρόληψη των βλαβών από τη χρήση της ολικής παρεντερικής διατροφής περιλαμβάνουν τη χορήγηση γλυκόζης, πρωτεϊνών και λιπιδίων σε στάγδην έγχυση και σε μικρότερες συγκεντρώσεις. Επιπρόσθετα, πρόδρομες μελέτες κατέδειξαν τη χρησιμότητα των διαλυμάτων λίπους με βάση το ιχθυέλαιο στην αντιμετώπιση της ηπατικής βλάβης από τα διαλύματα ΟΠΔ. Τελευταία αποδείχτηκε επίσης ότι η χορήγηση εντερικής διατροφής πλεονεκτεί στην αντιμετώπιση ή πρόληψη της ηπατικής αυτής βλάβης, όπως επίσης και στην προαγωγή της εντερικής προσαρμογής. Ενώ βρίσκονται σε εξέλιξη έρευνες για τις τροφικές ορμόνες, η πιο αξιόπιστη μέθοδος προς στιγμήν παραμένει η εντερική σίτιση (*Quiros-Tejeira et al, 2004*).

Η συνεχής εντερική σίτιση αποτελεί την πιο ενδεδειγμένη μέθοδο εντερικής σίτισης. Τα προβιοτικά φαίνεται πως αποτελούν μέρος της εντερικής αυτής σίτισης και παρακάτω θα αναλυθεί η χρησιμότητά τους στο ΣΒΕ.

Οι στόχοι επομένως της θεραπείας του ΣΒΕ, όπως έχουν προαναφερθεί, είναι οι ακόλουθοι τρεις: πρώτον, να διατηρήσει τους ασθενείς σε επαρκή θρέψη και ανάπτυξη, δεύτερον, να διατηρήσει σταθερό το ισοζύγιο υγρών και ηλεκτρολυτών και να περιορίσει την απώλεια υγρών, ηλεκτρολυτών και θρεπτικών στοιχείων με τα κόπρανα και τρίτον, να μεγιστοποιήσει τη διαδικασία της εντερικής προσαρμογής.

Η αλληλεπίδραση όμως, της βακτηριακής υπερανάπτυξης και του εντερικού φραγμού είναι εξαιρετικής σημασίας στους ασθενείς με ΣΒΕ, καθώς η απευθείας

αλλόθεση των βακτηρίων διαμέσω του εντερικού επιθηλίου συμβάλλει στη γέννηση των συμπτωμάτων που χαρακτηρίζουν αυτό το σύνδρομο.

2.4. Αλληλεπίδραση εντερικού φραγμού- Βακτηριακής Αλλόθεσης

Ο εντερικός φραγμός είναι το όριο μεταξύ του ενδοαυλικού περιεχομένου του εντέρου και του εντερικού βλεννογόνου, που προασπίζει το ανοσολογικό σύστημα του εντέρου. Ένα σύμπλεγμα αρκετών ανοσολογικών και μη παραγόντων διατηρεί τη λειτουργία του φραγμού του γαστρεντερικού σωλήνα. Το ανοσολογικό σύστημα του εντέρου περιλαμβάνει τις πλάκες του Peyer, τα λεμφικά κύτταρα που εδράζονται στην εντερική ενδοθηλιακή μεμβράνη (*lamina propria*), τα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα και το συσσωρευμένο επιθηλιακό ιστό των μεσεντέριων λεμφαδένων. Στον υγιή πληθυσμό, προσφέρει έναν αποτελεσματικό φραγμό έναντι των ενδοαυλικών αντιγόνων και των τοξινών.

Διαταραχή του εντερικού φραγμού σχετίζεται με την παθογένεση σοβαρών ασθενειών (*Clayburgh et al, 2004*). Η αλλόθεση χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη διάβαση ζωντανών αυτόχθονων βακτηρίων από το γαστρεντερικό σωλήνα, διαμέσω του βλεννογόνου, σε φυσιολογικά στείρους ιστούς, όπως οι μεσεντέριοι λεμφαδένες και άλλα όργανα (*Quigley et al, 2006*). Ο όρος χρησιμοποιείται επίσης και για τη δίοδο άλλων κλασμάτων και αντιγονικών μακρομορίων, όπως ενδοτοξίνες λιποπολυσακχαρίτη και πεπτιδογλυκάνες διαμέσω του εντερικού βλεννογονικού φραγμού (*Resta- Lenert et al, 2003*). Πιθανολογείται συνήθως ότι το κόλον, που φέρει το μεγαλύτερο βακτηριακό φορτίο, πρέπει να είναι η πιθανότερη πηγή βακτηριακής αλλόθεσης. Φαντάζει απίθανο ότι η αλλόθεση επιτελείται από άλλα σημεία του εντερικού σωλήνα φυσιολογικά στείρα, αλλά δεν υπάρχουν κλινικές ή πειραματικές αποδείξεις που να το τεκμηριώνουν αυτό. Είναι δελεαστικό να σκεφτεί

κανείς ότι οποιαδήποτε βακτήρια ή ενδοτοξίνες που περνούν μέσω του εντερικού φραγμού, μπορούν να προκαλέσουν σηπτικές επιπλοκές στον ξενιστή. Υπάρχουν όμως ισχυρές ενδείξεις, πως η αλλόθεση είναι στην πραγματικότητα ένα φυσιολογικό φαινόμενο (*Gatt et al, 2007*). Είναι πιθανό η αλλόθεση να συμβαίνει για να επιτρέψει στη διατροφική οδό να εκτίθεται και να συλλέγει αντιγόνα μέσα στον αυλό, έτσι ώστε το έντερο να μπορεί να κινητοποιεί μία ελεγχόμενη τοπική ανοσολογική αντίδραση, που βοηθάει στη διατήρηση των αντιγόνων αυτών μακριά από το εντερικό περιβάλλον, μία διεργασία γνωστή ως ‘‘από του στόματος ανοχή’’ (oral tolerance) (*O'Brien et al, 2002*). Μόνο τότε είναι που ξεπερνώνται ή βλάπτονται οι ανοσολογικές άμυνες του ξενιστή και εμφανίζονται οι σηπτικές επιπλοκές. Η σχέση μεταξύ της βακτηριακής υπερανάπτυξης και της συστηματικής σήψης είναι εξαιρετικής σημασίας στην εντερική ανεπάρκεια, εξαιτίας της απευθείας αλλόθεσης των βακτηρίων διαμέσω του εντερικού επιθηλίου και της δυνατότητας πρόκλησης συστηματικής σήψης.

Παρόλο, που η παθογένεση της σήψης και η πολυοργανική ανεπάρκεια σε βαρέως πάσχοντες παραμένουν ανεξακρίβωτα, είναι κοινά αποδεκτό πως το έντερο διαδραματίζει πρωταρχικό ρόλο (*Ewaschuk et al, 2007*). Ο ακριβής μηχανισμός είναι ασαφής, αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι οι αλλαγές στη γαστρεντερική χλωρίδα που σχετίζονται με τη λήψη των αντιβιοτικών, η ανοσοκαταστολή ή οι αλλαγές στην εντερική διαπερατότητα, δύνανται να διαταράσσουν την ομαλή οικολογική ισορροπία και να επηρεάζουν τη λειτουργία του εντερικού φραγμού (*Qin et al, 2005*). Αυτό προδιαθέτει την αλλόθεση βακτηρίων και ενδοτοξινών, που με τη σειρά τους καταλήγουν σε συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση και θνητότητα από σήψη. Τα βακτήρια φέρουν τοξίνες που μπορούν να συνδεθούν και να ενεργοποιήσουν τους Toll- like receptors (TLR), οι οποίοι διεγείρουν μέσω μιας αλληλουχίας την

παραγωγή πολλών προφλεγμονωδών κυτταροκινών, οδηγώντας σε φλεγμονή και πιθανή σήψη. Οι TLR εμπλέκονται σε πολλές νοσηρές για τον άνθρωπο καταστάσεις (Cario *et al*, 2007). Τα κύτταρα του Kupffer στο ήπαρ είναι μία σημαντική πηγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, που μπορούν να οδηγήσουν σε οργανική δυσλειτουργία. Οι TLR4 αποτελούν τους κύριους υποδοχείς λιποπολυσακχαριτών, παρόλο που συνυποδοχείς όπως οι CD14 εμπλέκονται επίσης στη ρύθμιση της ηπατικής φλεγμονώδους αλληλουχίας. Επιπρόσθετα, καθώς η σήψη φαίνεται πως ελαττώνει την εντερική προσαρμογή, πολλές μελέτες έχουν γίνει πάνω στην επίδραση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών στο ήπαρ (Bruewer *et al*, 2003).

Σε βαρέως πάσχοντες, η ισορροπία της εντερικής μικροοικολογίας επηρεάζεται σε τέτοιο βαθμό, που το πλήθος των δυνητικά παθογόνων βακτηρίων αυξάνει και διαταράσσεται η υγιής αλληλεπίδραση μεταξύ του ξενιστή και των μικροβίων. Οι στρατηγικές προστασίας του εντέρου σε βαριά νοσήματα στοχεύουν κυρίως στη διατήρηση επαρκούς σπλαγχνικής αιμάτωσης και την πρόληψη βλαβών ισχαιμίας- επαναιμάτωσης στο βλεννογόνο (Zareie *et al*, 2006). Μία άλλη προσέγγιση αποτελεί η προαγωγή της εντεροκυτταρικής θεραπείας μέσω διαιτητικών μέσων, όπως για παράδειγμα η γλουταμίνη (Spindler- Vesel *et al*, 2007). Ένας άλλος πιθανός στόχος είναι η γαστρεντερική μικροχλωρίδα (Caballero- Franco *et al*, 2007). Τα αυτόχθονα βακτήρια μπορούν περιστασιακά να συνεισφέρουν με διάφορα μέσα στον εντερικό βλεννογονικό φραγμό μέσω της αντίστασης στον αποικισμό, της ανοσοδιέγερσης και της παραγωγής βλέννας.

Συμπερασματικά, ο ακριβής μηχανισμός της βακτηριακής αλλόθεσης δεν είναι ακόμα γνωστός, αλλά η προσκόλληση των βακτηρίων στη βλεννογονική επιφάνεια αποτελεί προϋπόθεση για την παθογένεση πολλών λοιμώξεων προερχόμενων από το έντερο. Επίσης, η βιολογική δράση ενός προβιοτικού

βακτηρίου εξαρτάται από την προσκόλλησή του στον βλεννογόνο. Παρόλα αυτά, απομένει να εξακριβωθεί εάν η προσκόλληση του προβιοτικού αποτελεί προϋπόθεση για την πρόληψη της βακτηριακής αλλόθεσης της αυτόχθονης μικροχλωρίδας.

2.5. Συμ- Πρε- Προβιοτικά

Τα προβιοτικά είναι μη παθογόνα βακτήρια, φυσιολογικά προερχόμενα από τη θρεπτική οδό, τα οποία επηρεάζουν θετικά τον ξενιστή βελτιώνοντας το κολονικό μικροπεριβάλλον μέσω της προώθησης του αποικισμού. Μπορούν να προσφέρουν εναλλακτικές για την αντιμετώπιση του αυξανόμενου προβλήματος της ανοχής στα αντιβιοτικά και την αντιμετώπιση λοιμώξεων σε ασθενείς με γαστρεντερικές διαταραχές (*Schrezenmeir et al, 2001*).

Διάφορα στελέχη βακτηρίων χρησιμοποιούνται σε προβιοτικά σκευάσματα με πιο συχνά τους λακτοβάκιλλους, τα μπιφιντοβακτήρια, τα κολοβακτηρίδια, τους εντερόκοκκους, τους βάκιλλους και τους στρεπτόκοκκους. Ορισμένα στελέχη μυκήτων όπως οι σακχαρομύκητες έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί (*Schrezenmeir et al, 2001*). Οι θετικές επιδράσεις των προβιοτικών έχουν αναφερθεί σε διάφορες καταστάσεις όπως διάρροια (*De Vrese, 2003*), τροφικές αλλεργίες (*Pochard et al, 2002*), ανοσολογικές διαταραχές (*Nagao et al, 2000*), φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (*Mach, 2006*), πρόληψη ογκογένεσης εντέρου (*De Roos et al, 2000*) και πρόληψη απώλειας βάρους σε ζωικά πρότυπα (*Bowen et al, 2007*).

Οι θετικές επιδράσεις των διαφόρων στελεχών προβιοτικών βακτηρίων οφείλονται κυρίως στην τροποποίηση της σύστασης της εντερικής μικροχλωρίδας, στον ανταγωνισμό τους με τα παθογόνα βακτήρια για την προσκόλληση στο βλεννογόνο και τα θρεπτικά στοιχεία, στην παραγωγή αντιμικροβιακών ουσιών που διεγείρουν τη βλεννογονική και συστηματική ανοσολογική δραστηριότητα και

επιθηλιακή λειτουργία, ενισχύοντας την επιθηλιακή κυτταρική επιβίωση και βελτιώνοντας την ανοσολογική απόκριση (Shanahan, 2002; Guarner et al, 2003). Επιπρόσθετα, τα προβιοτικά μεταβολίζουν τα θρεπτικά στοιχεία σε διαλυτά λιπαρά οξέα και χημικά τροποποιημένα χολικά οξέα, τα οποία δημιουργούν ένα αφιλόξενο περιβάλλον για την ανάπτυξη πολλών παθογόνων εντερικών βακτηρίων (Tappenden et al, 2007). Τα προβιοτικά παράγουν μεγάλες ποσότητες λιπαρών οξέων μικράς αλύσου στο παχύ έντερο (Sakata, 1987). Λιπαρά οξέα μικράς αλύσου όπως το βουτηρικό, το προπιονικό και οξικό έχει αναφερθεί πως διεγείρουν τον εντερικό επιθηλιακό κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την παραγωγή εντερικής βλέννας, την έκκριση παγκρεατικών ενζύμων και την εντερική κινητικότητα και ελαττώνουν την επιθηλιακή κυτταρική απόπτωση (Kato, 1995).

Οι πιθανοί και επιστημονικά αποδεδειγμένοι μηχανισμοί δράσης (Gratz et al, 2010), με τους οποίους τα προβιοτικά αλληλεπιδρούν με τον εντερικό φραγμό και προάγουν την υγεία του γαστρεντερικού συνοψίζονται στο εξής: τα προβιοτικά και οι πρωτεΐνες επιφανείας συνεργικά αποκλείουν τα παθογόνα μικρόβια από τη βλεννογονική επιφάνεια. Οι πρωτεΐνες ισχυρής ζεύξης (tight junction proteins), όπως οι zona occludens-1 και claudin-1, παραμένουν ανέπαφες και συνεπώς προλαμβάνουν τόσο την πρόσληψη ανέπαφων μακρομορίων όσο και την αλλόθεση ζώντων μικροοργανισμών στους μεσεντέριους λεμφαδένες και κατά συνέπεια στο ήπαρ. Μέσα από μία σηματοδοτική αλληλουχία γεγονότων, τα προβιοτικά διεγείρουν την παραγωγή και την έκκριση αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως η IL-10 και ο TGF- β , από ένα υποσύνολο ανοσολογικών κυττάρων, αναφερόμενα ως T ρυθμιστικά κύτταρα. Εσωτερικές ανοσολογικές διεργασίες απέναντι στα προβιοτικά περιλαμβάνουν την αύξηση παραγωγής βλέννας και αντιβακτηριακών ντεφενσινών από τα κύτταρα Paneth και το εντερικό επιθήλιο. Τα προβιοτικά δύνανται επίσης να

επηρεάζουν την εντερική μικροχλωρίδα και να αναστέλλουν την εντερική βακτηριακή υπερανάπτυξη και την παραγωγή λιποπολυσακχαριτών (*Εικόνα 1*).

Υπάρχουν αρκετές αναφορές σε ζωικά πρότυπα σχετικά με την ευδόωση που προκαλούν τα προβιοτικά στην τοπική και συστηματική ανοσιακή απόκριση μέσω της διέγερσης της IgA, των T λεμφοκυττάρων, των μακροφάγων, των Th1 κυτταροκινών, όπως επίσης και στην ανοσορύθμιση που προκαλούν στον σχετιζόμενο με το έντερο λεμφικό ιστό και στην κυτταροτοξικότητα των κυττάρων φυσικών φονέων (*Taweechoitipatr et al, 2009; Kimoto et al, 2004; Roller et al, 2004; Matsuzaki et al, 2000; Benyacoub et al, 2003; Baillon et al, 2004*).

Τα πρεβιοτικά από την άλλη πλευρά, είναι υδρογονάνθρακες μικράς αλύσου (ολιγοσακχαρίτες) που εμφανίζουν ασυνήθιστη επίδραση στο έντερο. Επηρεάζουν τη σύσταση και την ισορροπία της μικροχλωρίδας τόσο στον αυλό όσο και στην βλεννογονική επιφάνεια, με τέτοιον τρόπο που αυξάνουν τη συγκέντρωση των λακτοβάκιλλων και των μπιφιντοβακτηρίων σε κυρίαρχο βαθμό. Αυτή η πιο υγιής τώρα μικροχλωρίδα προβάλλει μεγαλύτερη αντίσταση στις εντερικές λοιμώξεις και χαρακτηρίζεται από ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες. Τα πρεβιοτικά δρουν επίσης ως πηγή άνθρακα και ενέργειας για τα βακτήρια που αναπτύσσονται στο παχύ έντερο, όπου ζυμώνονται σε λιπαρά οξέα μικράς αλύσου και αποτελούν πηγή ενέργειας για το έντερο και άλλους ιστούς του οργανισμού (*Gibson et al, 2004*).

Επιπρόσθετα, δρουν εναλλακτικά στα προβιοτικά, και παρόλο που χειρίζονται δύσκολα σε ορισμένες τροφές, η θετική επίδρασή τους στην υγεία και ιδιαίτερα στην πρόληψη της διάρροιας και την ανοσοτροποποίηση, γίνεται καθολικά αποδεκτή. Τα πρεβιοτικά που χρησιμοποιούνται τελευταία και επιδρούν θετικά στη μικροχλωρίδα του ξενιστή είναι η ινουλίνη και τα παράγωγά της και οι γαλακτοολιγοσακχαρίτες, που είναι ιδιαίτερα φτηνοί στην παραγωγή τους ή προέρχονται από φυτικές πηγές.

Αποτελούν επίσης, πολύτιμα λειτουργικά συστατικά σε τρόφιμα καθώς δίνουν προϊόντα με βάση το λίπος και βελτιώνουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες των παραγώγων τους (*Macfarlane et al, 2006*). Σε κλινικό επίπεδο, τα πρεβιοτικά είναι πτωχά υπακτικά και έχουν χρησιμοποιηθεί χωρίς ιδιαίτερο αποτέλεσμα στην αντιμετώπιση της δυσκοιλιότητας.

Η συνδυασμένη χορήγηση προβιοτικών και πρεβιοτικών καλείται συμβιοτική θεραπεία και εμφανίζει ισχυρότερη δράση στην αντιμετώπιση εντερικών νοσημάτων από ότι τα προβιοτικά ή πρεβιοτικά μόνα τους.

Τα προβιοτικά φαίνεται πως έχουν ευρεία ευεργετική δράση, τόσο ως τρόφιμο όσο και ως θεραπευτικός παράγοντας. Έχουν αναγνωριστεί συγκεκριμένοι μηχανισμοί σε μερικά από αυτά τα βακτήρια που σχετίζονται σημαντικά με την παθογένεση εντερικών νόσων. Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει τον πιθανό μηχανισμό δράσης των προβιοτικών και έχουν αναγνωρίσει πως οι μικροοργανισμοί αυτοί έχουν απευθείας δράση στην επιθηλιακή κυτταρική λειτουργία και την υγεία του εντέρου. Ο πιθανός θεραπευτικός ρόλος των προβιοτικών στο κλινικό ΣΒΕ, προκύπτει μετά από τη σύζευξη του θεραπευτικού μηχανισμού δράσης των προβιοτικών και των παθογονικών μηχανισμών δράσης της νόσου.

Για την ώρα δεν υπάρχουν στη βιβλιογραφία τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες, που να αφορούν στη χρήση των πρεβιοτικών μόνων τους στο ΣΒΕ. Η παθογένεση του ΣΒΕ αποκλείει ίσως τη χρήση των πρεβιοτικών μόνων τους σε αυτήν την κατάσταση, καθώς είναι γνωστό πως ακόμα και μια μικρή κατανάλωση των ήδη γνωστών πρεβιοτικών οδηγεί σε υπερπαραγωγή αερίων, εξαιτίας της ταχείας ζύμωσής τους στο εγγύς έντερο (*Macfarlane et al, 2006*). Ωστόσο, υπάρχουν από την άλλη αρκετές μελέτες που αφορούν στη χρήση των συμβιοτικών στο ΣΒΕ με ποικίλα αποτελέσματα.

2.6. Πειραματικές μελέτες σε Ζωικά Πρότυπα

Πρόσφατα, έχει αναφερθεί η αποτελεσματικότητα της προ- πρε- και συμβιοτικής θεραπείας στη βελτίωση της εντερικής μικροβιακής ισορροπίας (*Herbert et al, 2008*), στην πρόληψη της βακτηριακής αλλόθεσης (*Mogilner et al, 2007*) και στη βελτίωση της θρέψης (*Eizaguirre et al, 2002*) σε ζωικά πρότυπα με ΣΒΕ.

Οι Mogilner και συνεργάτες (*Mogilner et al, 2007*) σε ένα ζωικό μοντέλο βραχέος εντέρου για τη βακτηριακή αλλόθεση και την εντερική ακεραιότητα υποστήριξαν ότι η χορήγηση προβιοτικών οδήγησε σε σημαντική μείωση της βακτηριακής αλλόθεσης και της εντεροκυτταρικής απόπτωσης σε σχέση με τα εντεροκτομηθέντα πρότυπα που δεν είχαν λάβει προβιοτικά. Οι επίμυες με ΣΒΕ παρουσίασαν σημαντική αύξηση σε σχέση με τα sham πρότυπα εντεροδιατομής στο βάρος του εντέρου και του επιθηλίου τμημάτων νήστιδας και ειλεού, του επιθηλιακού DNA και των πρωτεϊνών, του ύψους των λαχνών και του βάθους των κρυπτών. Επίσης, οι επίμυες με ΣΒΕ εμφάνισαν μεγαλύτερο δείκτη πολλαπλασιασμού και απόπτωσης τόσο στη νήστιδα όσο και στον ειλεό, σε σχέση με τα sham πρότυπα. Τα εντεροκτομηθέντα πρότυπα που έλαβαν προβιοτικά εμφάνισαν σημαντική αύξηση του βάθους των κρυπτών στον ειλεό και μικρή μείωση του αποπτωτικού δείκτη της νήστιδας και του ειλεού σε σχέση με τα πρότυπα που δεν έλαβαν προβιοτικά.

Οι Eizaguirre και συνεργάτες (*Eizaguirre et al, 2002*) προσπάθησαν να εξετάσουν την υπόθεση ότι η χορήγηση *Bifidobacterium lactis* (BL) από του στόματος μειώνει τη βακτηριακή αλλόθεση σε πρότυπα με ΣΒΕ. Βακτηριακή αλλόθεση ανιχνεύθηκε στο 6% των φυσιολογικών προτύπων. Η συχνότητα της βακτηριακής αλλόθεσης στα sham πρότυπα ήταν 87% (34 στα 39), την ώρα που το ποσοστό στα ζωικά πρότυπα που έλαβαν προβιοτικά ήταν 50% (9 στα 18) ($p<0.05$). Η σχετική ελάττωση του κινδύνου (relative risk reduction/RRR) ήταν 0.43 (95% CI:

0.14 με 0.72) και ο αριθμός των χρηζόντων αντιμετώπιση (number needed to treat/NNT) ήταν 3 (95% CI: 2 με 8). Με άλλα λόγια, τα πρότυπα που έλαβαν προβιοτικά ελάττωσαν τον κίνδυνο βακτηριακής αλλόθεσης κατά 43% (RRR: 0.43) και 1 στα 3 πρότυπα που έλαβαν προβιοτικά ήταν ελεύθερα βακτηριακής αλλόθεσης (NNT: 3).

Σε μία άλλη μελέτη του Garcia-Urkia (*Garcia-Urkia et al, 2002*) η χορήγηση *Bifidobacterium lactis* ελάττωσε τη συχνότητα βακτηριακής αλλόθεσης σε ενήλικους επίμυες, μετά από εκτομή του 80% του λεπτού εντέρου. Στο τέλος του πειράματος συλλέχθηκαν και καλλιεργήθηκαν μεσεντέριοι λεμφαδένες, περιφερικό και πυλαίο αίμα. Βακτηριακή αλλόθεση παρατηρήθηκε στο 93% των sham επίμυων, ενώ σε αυτούς που χορηγήθηκαν προβιοτικά 44%.

Αρκετές αναφορές υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία που ασχολήθηκαν με τον έλεγχο και την απόδειξη της διατήρησης της έκφρασης των πρωτεϊνών στενών συνδέσεων, την αναστολή της επιθηλιακής απόπτωσης, τη μείωση της παθογόνος βακτηριακής προσκόλλησης, την ελάττωση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών, την αύξηση της βλεννοπαραγωγής και της έκκρισης ντεφενσίνης· αυτοί είναι μερικοί από τους μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την ικανότητα των προβιοτικών να διατηρούν τον εντερικό φραγμό (*Peuranen et al, 2004; Zyrek et al, 2007; Yan et al, 2002; Schlee et al, 2008; Madsen et al, 2001; Resta- Lenert et al, 2009*).

Σε αυτό το σημείο είναι σημαντικό να αναφερθούμε σε δύο εμμέσως σχετιζόμενες μελέτες, που πραγματεύονται την ηπατική βλάβη, τη σήψη, τον εντερικό φραγμό και τα προβιοτικά, σε μία προσπάθεια να υποστηρίξουμε την ανάστροφη υπόθεση της παρακάτω αλληλουχίας φαινομένων: εντερική ανεπάρκεια που οδηγεί σε βακτηριακή αλλόθεση, σε πιθανή σήψη και σε επακόλουθη ηπατική βλάβη.

Στην πρώτη μελέτη οι Osman και συνεργάτες (*Osman et al, 2007*) υποστήριξαν ότι τα προβιοτικά επηρεάζουν την ηπατική λειτουργία και διατηρούν τον εντερικό φραγμό και την επιθηλιακή του λειτουργία σε ένα πειραματικό μοντέλο μικροβιακής σήψης (D γαλακτοζαμίνη και λιποπολυσακχαρίτες). Χρησιμοποιήθηκαν επίμυες Sprague-Dawley οι οποίοι χωρίστηκαν σε έξι πειραματικές ομάδες, μία ομάδα αναφοράς οξείας ηπατικής βλάβης και πέντε ομάδες ηπατικής βλάβης όπου χορηγήθηκαν προβιοτικά και/ή φράουλα. Τα επίπεδα της ALT του ορού μειώθηκαν σημαντικά, όπως και η χολερυθρίνη, το TNFα του ήπατος, η μυελοϋπεροξειδάση και το οξικό οξύ του εντερικού περιεχομένου. Αντίθετα, η τιμή της γλουταθειόνης του ήπατος αυξήθηκε σημαντικά σε σχέση με την ομάδα αναφοράς. Η ηπατική IL1β και η βακτηριακή αλλόθεση στο ήπαρ και τους μεσεντέριους λεμφαδένες μειώθηκαν σημαντικά σε όλες τις ομάδες πλην της ομάδας αναφοράς. Ο πληθυσμός εντεροβακτηριοειδών μειώθηκε σημαντικά στις ομάδες που ελάμβαναν προβιοτικά σε σχέση με τις υπόλοιπες. Το συμπέρασμα της έρευνας ήταν ότι τα προβιοτικά και οι φράουλες εξασκούν προστατευτική δράση έναντι της οξείας ηπατικής βλάβης· ελαττώνουν τη βλάβη των ηπατοκυττάρων, τη φλεγμονή και τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και βελτιώνουν τις λειτουργίες του εντερικού φραγμού και την αντιοξειδωτική δραστηριότητα.

Οι Ewaschuk και συνεργάτες (*Ewaschuk et al, 2007*) με τη μελέτη τους προσπάθησαν επίσης να αποδείξουν την επίδραση που ασκούν τα προβιοτικά στην ηπατική και εντερική βλάβη σε ένα πειραματικό μοντέλο σήψης. Χρησιμοποιήθηκαν αγρίου τύπου ποντίκια με έλλειψη στο γονίδιο της IL10, στα οποία χορηγήθηκε το συνδυασμένο προβιοτικό VSL3 για 7 ημέρες. Για την επαγωγή της σήψης ενέθηκαν στα ποντίκια λιποπολυσακχαρίτες και D γαλακτοζαμίνη, με σκοπό τον προσδιορισμό του peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) inhibitor

GW9662. Τα δείγματα ήπατος αναλύθηκαν για βακτηριακή αλλόθεση, παραγωγή κυτταροκινών, παθολογοανατομική βλάβη και επίπεδα PPAR γ . Τα ποντίκια στα οποία χορηγήθηκαν σηπτικοί παράγοντες, εμφάνισαν διάσπαση του εντερικού φραγμού, η οποία προκάλεσε με τη σειρά της έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών, βακτηριακή αλλόθεση και σημαντική ηπατική βλάβη. Το συμπέρασμα των συγγραφέων ήταν, ότι η από του στόματος χορήγηση προβιοτικών προστατέψαε τη διάσπαση του εντερικού φραγμού, ελάττωσε τη βακτηριακή αλλόθεση και ανάσχεσε την επιδείνωση της ηπατικής λειτουργίας. Η ανάδραση του PPAR γ με GW9662 ανέστειλε την επαγόμενη από τα προβιοτικά προστασία.

Ενδείξεις από πειραματικές μελέτες σε ζωικά πρότυπα, όπως αναφέρθηκαν προηγουμένως, αποδεικνύουν ότι τα προβιοτικά προστατεύουν το φραγμό και έχουν αντιβακτηριδιακές, ανοσοτροποποιητικές και αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις, που προστατεύουν από τη βακτηριακή υπερανάπτυξη και την εντερική ανεπάρκεια.

2.7. Κλινικές Μελέτες

Μακροχρόνιες μελέτες στον τομέα της διατροφής παιδιατρικών ασθενών με ΣΒΕ ακόμα και μετά τη μακρόχρονη χρήση ΟΠΔ, κατέδειξαν την ανάγκη εύρεσης συνδυασμένης φόρμουλας αντιμετώπισης του προβλήματος (*Wu et al, 2007*).

Υπάρχουν αρκετές κλινικές αναφορές που αφορούν στην ικανότητα των προβιοτικών να διεγείρουν την ανοσιακή απόκριση έναντι γαστρεντερικών λοιμώξεων μέσω της έκκρισης IgA, της ρύθμισης της λειτουργίας των ανθρώπινων δενδριτικών κυττάρων και της αναστολής της δραστηριότητας των κυττάρων φυσικών φονέων (*Fukushima et al, 1998; Mohamadzadeh et al, 2005; McNaught et al, 2002*). Επιπρόσθετα, άλλες μελέτες έχουν καταδείξει την επωφελή δράση από τη χορήγηση των προ- πρε- και συμβιοτικών σε κλινικές περιπτώσεις όπως στους

βαρέως πάσχοντες ασθενείς (critically ill patients) (McNaught *et al*, 2005), στη λοίμωξη του χειρουργικού τραύματος (Howard *et al*, 2004), και στο σύνδρομο του βραχέος εντέρου από εμμένουσα εντεροκολίτιδα. Μετά από εκτεταμένη βιβλιογραφική ανασκόπηση βρέθηκαν ελάχιστες κλινικές μελέτες που αναφέρονται σε ΣΒΕ και προβιοτικά και μόνο δύο εξ αυτών είναι τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες.

Η χρήση των προβιοτικών στην πρόληψη της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας και του συνδρόμου βραχέος εντέρου στα νεογνά έχει πιστοποιηθεί από τον Alfaleh και τους συνεργάτες (Alfaleh *et al*, 2009) σε εννέα τυχαιοποιημένες μελέτες πάνω σε 1425 νεογνά. Οι σχετικές μελέτες βασισμένες σε συγκεκριμένα κάθε φορά κριτήρια διαφοροποιούνταν με βάση τη βασική πιθανότητα ανάπτυξης NEK στις ομάδες αναφοράς, το χρόνο, τη δόση, τη φόρμουλα των προβιοτικών και τα διατροφικά όρια. Η μετανάλυση των στοιχείων αυτών κατέδειξε ότι η εντερική χορήγηση των προβιοτικών ελάττωσε σημαντικά την επίπτωση της NEK καθώς και τη θνητότητα από αυτήν. Δεν υπήρξε απόδειξη σημαντικής μείωσης της νοσοκομειακής σήψης ή των ημερών εξάρτησης από την ολική παρεντερική διατροφή. Η στατιστική ανάλυση της ετερομορφίας της NEK, καθώς και της θνητότητας και της σήψης απέδωσε μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Επιπρόσθετα, τα στοιχεία που αφορούσαν σε πρώιμα νεογνά δεν συμπεριελήφθησαν στην έρευνα, ενώ δεν αναφέρθηκε συστηματική λοίμωξη από τα χορηγούμενα προβιοτικά.

Οι Kanamori και συνεργάτες ανέφεραν την εμπειρία τους από τη χορήγηση συμβιοτικής θεραπείας σε δύο μελέτες: στην πρώτη (Kanamori *et al*, 2004) μελετήθηκαν 7 ασθενείς με βραχύ έντερο και εμμένουσα εντεροκολίτιδα, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι το πρωτόκολλο αυτό δυνητικά διεγείρει την εντερική χλωρίδα, αυξάνοντας τα λιπαρά οξέα μικράς αλύσου και επιταχύνοντας την

πρόσληψη βάρους από τον ασθενή. Οι συγγραφείς σχεδίασαν ένα πρωτόκολλο συμβιοτικής θεραπείας που περιελάμβανε τα *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei* και *galactooligosaccharides* διαπιστώνοντας την κλινική τους επίδραση σε ανθρώπους. Το συγκεκριμένο σκεύασμα χορηγήθηκε για περισσότερο από ένα χρόνο σε υποσιτιζόμενους ασθενείς με ΣΒΕ και εμμένουσα εντεροκολίτιδα. Το θεραπευτικό πρωτόκολλο οδήγησε σε βελτίωση της εντερικής βακτηριακής χλωρίδας (επάγοντας την κυριαρχία των αναερόβιων βακτηρίων και την καταστολή του εποικισμού παθογόνων βακτηρίων) και στην αύξηση των λιπαρών οξέων μικρής αλύσου στα κόπρανα (από 27.8 έως 65.09 $\mu\text{mol/g}$ στα ρευστά κόπρανα). Όλοι οι ασθενείς πλην ενός, επιτάχυναν την αύξηση του βάρους τους και 5 ασθενείς επέδειξαν αύξηση των πρωτεϊνών του ορού.

Η άλλη μελέτη (*Kanamori et al, 2001*) ανέφερε τη χρήση της συμβιοτικής θεραπείας στην αντιμετώπιση του ΣΒΕ σε μία 4χρονη ασθενή. Ως συμβιοτική θεραπεία χρησιμοποιήθηκαν τα *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei*, και *galactooligosaccharides*. Η καινοφανής αυτή συνδυαστική θεραπεία θεωρήθηκε πως μπορεί να έχει συνεργική δράση στη βελτίωση της υγείας του ασθενούς. Η εντερική απορροφητική ικανότητα και κινητικότητα βελτιώθηκε δραματικά από αυτή την καινοτόμα συμβιοτική θεραπεία και η υγεία της ασθενούς βελτιώθηκε σημαντικά μετά από δύο έτη συνεχούς θεραπείας.

Οι Uchida και συνεργάτες (*Uchida et al, 2007*) χορηγώντας συμβιοτική θεραπεία με *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei* και *galactooligosaccharides* σε τέσσερεις παιδιατρικούς ασθενείς με ΣΒΕ διεπίστωσαν βελτίωση της ανοσοδιατροφικής κατάστασης του ασθενούς. Τέσσερα υγιή παιδιά, παρόμοιων ηλικιών χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Δείγματα κοπράνων από τους ασθενείς και τους μάρτυρες συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν όσον αφορά στη βακτηριακή χλωρίδα

των απεκκρίσεων και το περιεχόμενο σε οργανικά οξέα. Τα επίπεδα των λιπαρών οξέων μικράς αλυσού όπως το βουτηρικό, το προπιονικό και το οξικό αυξήθηκαν σε έναν ασθενή, όπως και ο λόγος τους προς τα οργανικά οξέα σε άλλους τρεις. Ο αριθμός των λεμφοκυττάρων του ορού και η συγκέντρωση της προαλβουμίνης αυξήθηκαν με την έναρξη της συμβιοτικής θεραπείας, φθάνοντας σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο στους εννέα μήνες από την έναρξη της θεραπείας. Παρατηρήθηκε επίσης αυξητική τάση του ύψους και του βάρους των ασθενών σε σχέση με την προ θεραπείας περίοδο. Η σύσταση της βακτηριακής χλωρίδας των κοπράνων του ασθενούς βελτιώθηκε ως απότοκος της συμβιοτικής θεραπείας.

Οι Jain και συνεργάτες (*Jain et al, 2004*) σε μία προοπτική τυχαιοποιημένη μελέτη πρότειναν ότι η εντερική χορήγηση συμβιοτικού σκευάσματος σε βαρέως νοσούντες μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη μικροβιακή σύσταση της ανώτερης γαστρεντερικής οδού. Συνολικά 90 ασθενείς που νοσηλεύονταν σε μονάδα εντατικής θεραπείας τυχαιοποιήθηκαν και έλαβαν είτε συμβιοτικά είτε placebo (45 άτομα η κάθε ομάδα). Το συμβιοτικό σκεύασμα αποτελούνταν από *L. acidophilus* La5, *B. lactis* Bb 12, *Streptococcus thermophilus* and *L. bulgaricus* (προβιοτικά) και ολιγοφρουκτόζη (πρεβιοτικό). Η λειτουργία του εντερικού φραγμού προσδιορίστηκε με μέτρηση της εντερικής διαπερατότητας (έλεγχος λακτόζης/ραμνόζης) και από την καλλιέργεια ρινογαστρικού αναρροφήματος κατά την πρώτη και την όγδοη μέρα. Καταγράφηκαν όλες οι σηπτικές επιπλοκές και η θνητότητα. Η έρευνα κατέληξε στο συμπέρασμα, ότι δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των ομάδων στην ηλικία, στο φύλο και στα σκορ APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II) και POSSUM (Physiologic and Operative Severity Score for the enumeration of Mortality and Morbidity). Μετά από μία εβδομάδα θεραπείας, οι ασθενείς της συμβιοτικής ομάδας εμφάνισαν σημαντικά μικρότερη συχνότητα σε δυνητικά παθογόνα βακτήρια

(43 v. 75%, $p<0.05$) και πολλαπλούς οργανισμούς (39 v. 75%, $p<0.01$) στο ρινογαστρικό τους αναρρόφημα, από ότι οι μάρτυρες. Δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων σε θέματα εντερικής διαπερατότητας, σηπτικών επιπλοκών και θνητότητας. Συμπερασματικά, η υψηλή συχνότητα εντερικών μικροοργανισμών που απομονώθηκαν ταυτόχρονα από ρινογαστρικές εκκρίσεις και άλλες σηπτικές εστίες παρέχουν επιπρόσθετες αποδείξεις στην υπόθεση της προερχόμενης από το έντερο σήψης.

Ωστόσο, το γεγονός ότι περισσότερες κλινικές μελέτες απαιτούνται για να πιστοποιηθούν με στατιστική σημαντικότητα τα αποτελέσματα, προκύπτει σε μία πρόσφατη διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη με placebo, διασταυρούμενη μελέτη, όπου εξετάστηκε η επίδραση της χορήγησης λακτοβάκιλλου *rhamnosus* GG (LGG) στην εντερική διαπερατότητα παιδιατρικών ασθενών με ΣΒΕ (*Sentongo et al, 2008*). Είκοσι ένα παιδιά ηλικίας από 18 μηνών έως 16.4 ετών με ΣΒΕ συμμετείχαν στην έρευνα. Εννέα παιδιά με ΣΒΕ έλαβαν ημερήσια δόση 10 δισεκ. μονάδων λακτοβάκιλλου για τέσσερις εβδομάδες, ακολοθούμενη από διακοπή τριών εβδομάδων πριν την εναλλαγή της θεραπείας και τη χορήγησής της για ακόμη 4 εβδομάδες. Δώδεκα υγιή παιδιά συμμετείχαν ως μάρτυρες όπου και τους δόθηκε placebo κάψουλα. Η εντερική διαπερατότητα, ποσοτικές καλλιέργειες κοπράνων για τα στελέχη του λακτοβάκιλλου (cfu/gr) και η δοκιμασία απόπνοιας υδρογόνου (hydrogen breath test) ελέγχθησαν κατά τη διάρκεια των δύο φάσεων της έρευνας. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι οι βασικές μετρήσεις της εντερικής διαπερατότητας ήταν όμοιες στους μάρτυρες και τους ασθενείς με ΣΒΕ και ότι η εντερική διαπερατότητα συσχετίστηκε με την ηλικία στους μάρτυρες και όχι στους υπόλοιπους ασθενείς. Επιπρόσθετα, ο αποικισμός των κοπράνων με στελέχη λακτοβάκιλλου δεν διέφερε στις δύο φάσεις της θεραπείας, ενώ κατά τη διάρκεια της χορήγησης

λακτοβάκιλλων δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στην εντερική διαπερατότητα ή συσχέτιση με την ηλικία και σε ένα άτομο μόνο συνοδεύτηκε από θετικοποίηση της δοκιμασίας απόπνοιας υδρογόνου. Οι συγγραφείς συμπέραναν ότι σε αυτό το δείγμα παιδιών με ΣΒΕ, η εντερική διαπερατότητα ήταν εντός υγιών ορίων και δε συσχετίστηκε με την ηλικία και ότι η θεραπεία με λακτοβάκιλλους δεν επέδρασε στην εντερική διαπερατότητα. Τα ευρήματα αυτά, δεν υποστηρίζουν τελικά την υπόθεση, ότι η εμπειρική θεραπεία με λακτοβάκιλλους σε παιδιά με ΣΒΕ ενισχύει την εντερική διαπερατότητα, καθώς δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην εντερική διαπερατότητα μεταξύ των δύο ομάδων.

Οι προβιοτικοί παράγοντες θεωρούνται γενικά ασφαλείς, επιπλοκές όμως πάντα μπορούν να συμβούν. Αρκετές εργασίες περιγράφουν βακτηριαιμία από λακτοβάκιλλους, D γαλακτική οξέωση και απόστημα ήπατος μετά από χορήγηση προβιοτικών σε ασθενείς με ΣΒΕ (*Snydman, 2008*) .

Οι De Groote και συνεργάτες (*De Groote et al, 2005*) περιέγραψαν μία περίπτωση βακτηριαιμίας μετά από κατανάλωση λακτοβάκιλλου rhamnosus GG με μορφή ταμπλέτας, σε ένα παιδί πάσχον από ΣΒΕ. Ανευρέθησαν ταυτόσημες γονιδιακές αλληλουχίες μεταξύ της ταμπλέτας και προϊόντων ηλεκτροφόρησης του αίματος.

Σε μία άλλη μελέτη οι Kunz και συνεργάτες (*Kunz et al, 2004*) ανέφεραν δύο περιπτώσεις χορήγησης λακτοβάκιλλου GG σε ασθενείς με ΣΒΕ, υποστηρίζοντας ότι το συγκεκριμένο στέλεχος προβιοτικού όταν χορηγείται σε περιπτώσεις που το έντερο είναι βεβλαμμένο, μπορεί να ενοχοποιείται για βακτηριαιμία και σήψη. Ως συμπέρασμα, οι συγγραφείς πρότειναν ότι αυτοί οι ασθενείς πρέπει να παρακολουθούνται στενά για σημεία σήψης και ότι στην εμπειρική θεραπεία για τη

σήψη πρέπει να προσμετρώνται στοιχεία αιμοκαλλιιεργειών ειδικά για το στέλεχος του προβιοτικού που έχει χρησιμοποιηθεί.

2.8. Συμπεράσματα

Η ακριβής διάγνωση της βακτηριακής υπερανάπτυξης και της διαδικασίας του ΣΒΕ αποτελεί πρόκληση στην κλινική πράξη και ιδιαίτερα ανάμεσα στους ασθενείς με εντερική ανεπάρκεια. Η πρόσφατη πρόκληση εν προκειμένω, βασίζεται στην επιλογή της συντηρητικής ή χειρουργικής θεραπείας και στην επιτυχή εφαρμογή τους, με στόχο την ενίσχυση των αυτόλογων μηχανισμών εντερικής προσαρμογής. Με αυτόν τον τρόπο ασθενείς με εντερική ανεπάρκεια μπορούν να αποφύγουν τη μεταμόσχευση και τους κινδύνους της πολυετούς αναμονής δότη και της ανοσοκαταστολής.

Σήμερα, τα από του στόματος χορηγούμενα διατροφικά συμπληρώματα αποτελούν την ενδεδειγμένη μέθοδο για την προαγωγή της εντερικής προσαρμογής. Μία κατηγορία εξ αυτών αποτελούν τα προβιοτικά, παρόλο που ο μηχανισμός που επιδρούν στη μικροχλωρίδα του γαστρεντερικού δεν έχει εξακριβωθεί πλήρως. Τοπικοί και απομακρυσμένοι μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών έχουν προταθεί. Μελέτες έχουν καταδείξει τη μείωση παθογόνων μικροοργανισμών ακόμα και σε σημεία μακριά από το έντερο, όπως ο κόλπος και η ρινική κοιλότητα, μετά από του στόματος χορήγηση προβιοτικών. Ακολουθώντας, μελέτες σε *in vitro* συστήματα και σε ποικίλα ζωικά πρότυπα κατέδειξαν την προστατευτική δράση των προ-πρε- και συμβιοτικών. Ωστόσο, οι κλινικές μελέτες είναι ακόμα περιορισμένες, ιδιαίτερα όσον αφορά τη συγκριτική τους δράση. Είναι πολύ πιθανό πως δεν υπάρχει ιδανική θεραπεία για όλες τις περιπτώσεις και ότι εξαρτάται από τη μοναδική για τον καθένα σύσταση της εντερικής του χλωρίδας.

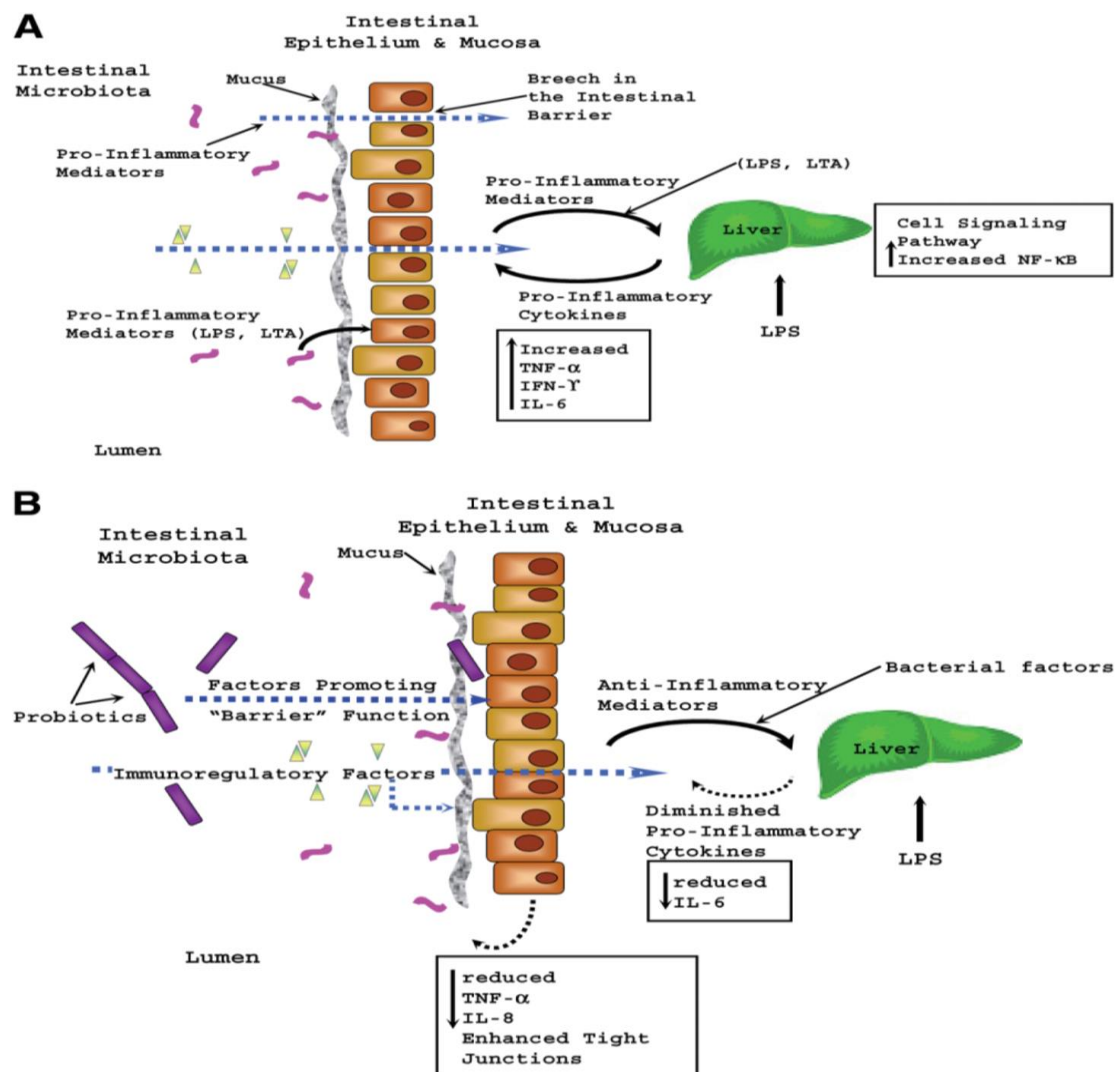
Νέες προοπτικές ανοίγονται μέσω της γεννητικής τροποποίησης των προβιοτικών και του σχεδιασμού απευθείας απόδοσης στο έντερο. Παρόλο που το πεδίο δράσης αυτό είναι ενθουσιώδες και πολλά υποσχόμενο, ο ενθουσιασμός μας πρέπει να μετριάζεται από το γεγονός ότι βρισκόμαστε πιθανώς πολλά χρόνια πίσω από τη γνώση του πώς πρέπει να χρησιμοποιούνται ακριβώς αυτοί οι παράγοντες και επομένως ο ρόλος τους παραμένει ακόμα περιορισμένος.

Καταληκτικά, βασιζόμενοι σε στοιχεία κλινικών μελετών, πρέπει να τονίσουμε το γεγονός πως οι ερευνητές και οι θεράποντες πρέπει να παραμένουν επιφυλακτικοί στη σύσταση των προβιοτικών ως αποκλειστικού θεραπευτικού μέσου. Περισσότερες κλινικές μελέτες απαιτούνται, προσεκτικά σχεδιασμένες, μακροχρόνιες που να αφορούν στη χρήση διαφόρων σκευασμάτων. Το ΣΒΕ αποτελεί μία περίπλοκη παθοφυσιολογική οντότητα και ο θεραπευτικός συνδυασμός πρέπει να αποτελεί προτεραιότητα στη διασφάλιση καλύτερης πρόγνωσης για τον ασθενή.

Εικόνα 1. Τα εντερικά βακτήρια και οι επιδράσεις τους στη λειτουργία του φραγμού και στην ανταπόκριση των κυτταροκινών.

A: προφλεγμονώδεις επιδράσεις της συστηματικής έκθεσης σε λιποπολυσακχαρίτη κατά τη διάρκεια της σήψης, που επηρεάζει τη λειτουργία του εντερικού φραγμού.

B: τα προβιοτικά βακτήρια διεγείρουν την έκκριση προφλεγμονωδών μεσολαβητών και επαναφέρουν τη λειτουργία του εντερικού φραγμού.



(Versalovic, 2007)

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

3.1. Έγκριση πρωτοκόλλου

Για την εκτέλεση του ερευνητικού πρωτοκόλλου ελήφθη άδεια από τη Διεύθυνση της Κτηνιατρικής Υπηρεσίας της Νομαρχίας Αθηνών (Αριθμός Πρωτοκόλλου: Κ/2684/13-5-2008) και την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου “Αττικών” (Αριθμός Πρωτοκόλλου: 3/17-04-08). Η έρευνα διεξήχθη σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία και τις αρχές που διέπουν την εκτέλεση πειραματικών πρωτοκόλλων (εναρμονισμένη με την 160/91 νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης) και σύμφωνα με το διεθνή κανονισμό διαχείρισης των πειραματόζων (National Institutes of Health Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals). Η έρευνα πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής του Π.Γ.Ν. “Αττικών”.

3.2. Ζωικά Πρότυπα

Σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό στη μελέτη συμπεριελήφθησαν άρρενες επίμυες τύπου albino Wistar ηλικίας 8-12 εβδομάδων που προμηθεύονταν τμηματικά από το Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ (Αθήνα) και συνοδεύονταν από πιστοποιητικό ελέγχου λοιμωδών νοσημάτων. Συνολικά 89 ζωικά πρότυπα χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα, ωστόσο στο τέλος του πειραματισμού είχαν επιβιώσει μόνο τα 70. Οι αρσενικοί επίμυες Wistar μέσου βάρους 300 γρ. (μέσο βάρος $\pm$ SD, 300 $\pm$ 23 γρ.) φιλοξενήθηκαν κατά μόνος σε κλουβιά από Plexiglas (García-Urkia et al, 2008) (Εικόνα 2). Τα ζωικά πρότυπα παρέμειναν 4 ημέρες πριν τον πειραματισμό ανέπαφα προς εγκλιματισμό, με ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό. Οι διαφοροποιήσεις στην πρόσληψη τροφής μεταξύ των ζώων προεγχειρητικά

δεν ήταν σημαντικές. Η θερμοκρασία του χώρου ήταν μεταξύ 18 και 22°C, με σχετική υγρασία 55 με 65% και κύκλο ημέρας/ νύχτας 12 ωρών (6 πρωί με 6 βράδυ).

3.3. Δίαιτα

Οι επίμυες είχαν ελεύθερη πρόσβαση (*ad libitum*) σε κανονική για τρωκτικά τροφή (αφοί Κεραμάρη & ΣΙΑ, Αθήνα), που αποτελούνταν από πρισματικά συσσωματώματα (pellets) ειδικής σύστασης (δημητριακά, σογιάλευρο, μηδικάλευρο, ζύμη, γάλα, υποπροϊόντα σίτου, αλάτι, διφωσφορικό ασβέστιο, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία, αμινοξέα) και θερμιδικής αξίας περίπου 70.4 gr/500ml υδατάνθρακες, 20.3gr/500ml πρωτεΐνες και 17.4gr/ml λιπίδια, καθώς επίσης και σε πόσιμο νερό από φιάλη με επιστόμιο.

Η βιολογικά ενεργή συμβιοτική φόρμουλα που χρησιμοποιήθηκε για τον εμπλουτισμό της τροφής των επίμυων (''Prolife Lactobacilli'', Zeta Farmaceutici SpA, Nestoras Vlachos O.E.-''Epsilon Health'', Thessaloniki, Greece), περιέχει για καθημερινή δόση 10 ml, όπως προτείνεται από τον κατασκευαστή, 5×10^8 προβιοτικά βακτήρια από 6 διαφορετικά είδη μαζί με πρεβιοτικά και ένα σύμπλεγμα Β βιταμινών. Η ακριβής σύνθεση της διαίτας συνοψίζεται στον *Πίνακα 3*.

Το σκεύασμα φυλάσσεται σε δίσχωρα φιαλίδια ως πόσιμο διάλυμα και η μέθοδος παραγωγής του διασφαλίζει τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών κατά τη διαδικασία παραγωγής και αποθήκευσης. Γενικά, χαρακτηρίζεται ως ασφαλές, χωρίς αντενδείξεις και παρενέργειες, καθώς περιέχει είδη βακτηρίων με μακροχρόνια ένδειξη ασφαλούς χρήσης (*Eizaguirre et al, 2010*). Επιπλέον, δεν περιέχει ζάχαρη και κατά συνέπεια ενδείκνυνται για ασθενείς που πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη.

Η πολυδύναμη σύνθεση των συμβιοτικών είχε ενεργειακό περιεχόμενο 48Kcal/100mL, ευχάριστη γεύση και χορηγούνταν καθημερινά σε δοσολογία

2mL/ημέρα διαλυμένη σε μικρή ποσότητα πόσιμου νερού (50mL) σε ξεχωριστή φιάλη έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η κατανάλωση ολόκληρης της ποσότητας. Το προστιθέμενο στο πόσιμο νερό θρεπτικό σκεύασμα χορηγούνταν από την πρώτη έως την 14 ημέρα μετεγχειρητικά ή για 7 ημέρες άμεσα προεγχειρητικά, συμφώνως πρωτοκόλλου. Καταγράψαμε την καθημερινή κατανάλωση των συμβιοτικών κατά τη μετεγχειρητική περίοδο και κάθε 8 ώρες, όταν διαπιστώναμε διαφοροποιήσεις στην πρόσληψη, τροποποιούσαμε τη συγκέντρωση του διαλύματος, έτσι ώστε στο τέλος του 24ώρου να πετύχουμε παρόμοια πρόσληψη μεταξύ των πειραματόζων, ίση με 2 ml προϊόντος. Η ανωτέρω δόση συμβιοτικών καθορίστηκε με βάση τη Συνιστώμενη Ημερήσια Δόση (RDA) σε άνθρωπο και μετά από αναγωγή σε επίμυ και συμπίπτει με τα υπάρχοντα δημοσιευμένα πειραματικά δεδομένα. Η μέθοδος αυτή της χορήγησης των συμβιοτικών θεωρήθηκε υπέρτερη της εξαναγκαστικής χορήγησης με στοματογαστρικό σωλήνα (oral gavage) εξαιτίας των επιπλοκών που συνεπάγεται η τελευταία (πνιγμονή από εισρόφιση, ρήξη οισοφάγου), αλλά και του γεγονότος ότι ο υπό εξέταση παράγοντας είναι ζώντα βακτήρια.

3.4. Πειραματικό Πρωτόκολλο

Η διάρθρωση του πειραματικού πρωτοκόλλου ακολούθησε τον πλήρη παραγοντικό σχεδιασμό (full factorial design), όπου η ανεξάρτητη μεταβλητή (συμβιοτικά) αξιολογήθηκε επί της εξαρτημένης μεταβλητής (σύνδρομο βραχέος εντέρου) σε δύο παρεμβατικά σχήματα (προστατευτικό και θεραπευτικό).

Τα ζωικά πρότυπα χωρίστηκαν τυχαία σε επτά πειραματικές ομάδες αποτελούμενες από 10 αρουραίους στο τέλος του πειραματισμού (n=10). Ο στόχος ήταν τη στιγμή της ευθανάτωσης (τέλος πειραματισμού) να υπάρχουν από 10 ζωντανά ζωικά πρότυπα σε κάθε ομάδα, βάσει βιβλιογραφίας και με σκοπό να έχουμε

ένα δείγμα με επαρκή στατιστική ισχύ. Τα στοιχεία των υπόλοιπων 19 ζώων που χρησιμοποιήθηκαν αρχικά, αλλά πέθαναν κατά τη διάρκεια του πειραματισμού, χρησιμοποιήθηκαν μόνο για τον καθορισμό του ποσοστού επιβίωσης. Η ομάδα Α (control) αποτελούνταν από φυσιολογικά μη εγχειρισμένα ζώα, που ετράφησαν με φυσιολογική τροφή και ευθανατώθηκαν σε 14 μέρες. Η ομάδα Β (control SYM) αποτελούνταν επίσης από φυσιολογικά μη εγχειρισμένα πρότυπα, τα οποία έλαβαν τροφή εμπλουτισμένη με συμβιοτικά και ευθανατώθηκαν επίσης στις 14 μέρες, έτσι ώστε να αξιολογηθεί η επίδραση των συμβιοτικών στο φυσιολογικό ιστό. Η ομάδα Γ (sham), ως το πρότυπο της ελάχιστης χειρουργικής παρέμβασης, περιελάμβανε ζώα που υπέστησαν εντεροδιατομή του λεπτού εντέρου και επαναστόμωση, ετράφησαν με φυσιολογική τροφή και ευθανατώθηκαν 14 μέρες μετά το χειρουργείο, προς αξιολόγηση της επίδρασης της λαπαροτομίας. Οι ομάδες Δ (SBS) και Ε (SSYM) αποτελούνταν από επίμυες που υπέστησαν 75% εντερεκτομή, ετράφησαν με φυσιολογική τροφή είτε καθαρή είτε εμπλουτισμένη με συμβιοτικά αντίστοιχα, και ευθανατώθηκαν σε 14 μέρες μετεγχειρητικά. Τέλος, οι ομάδες ΣΤ (SD) και Ζ (SS) αποτελούνταν από ζώα που ετράφησαν με φυσιολογική τροφή και συμβιοτικά αντίστοιχα, για 7 ημέρες προεγχειρητικά, υπέστησαν εντερεκτομή κατά τα ανωτέρω πρότυπα και ευθανατώθηκαν 6 ώρες μετά το χειρουργείο (*Πίνακας 4*).

Η επιλογή του μεσοδιαστήματος ευθανάτωσης των πειραματόζωων έγινε βάσει βιβλιογραφίας, καθώς έχει αποδειχθεί πως οι δύο πρώτες εβδομάδες είναι οι πιο σημαντικές για τη βλεννογόνια εντερική ανάπτυξη και προσαρμογή παρά το γεγονός πως η τελευταία διαρκεί εβδομάδες μετά την εντερεκτομή, ενώ η άμεση μετεγχειρητική περίοδος και ιδιαίτερα το πρώτο 24ωρο είναι αυτό που χαρακτηρίζεται από ραγδαία αύξηση των κυτταροκινών, απότοκης του χειρουργικού στρες (*Misiakos et al, 2013*).

3.5. Εγχειρητική διαδικασία

Οι επίμυες παρέμειναν νήστες από ξηρά τροφή για 24 ώρες πριν τον πειραματισμό με ελεύθερη πρόσβαση όμως σε νερό. Αναισθητοποιούνταν με ενδομυϊκή χορήγηση διαλύματος κεταμίνης (100 mg/ml/kg) και ξυλαζίνης (20 mg/ml/kg). Με τη χρήση αποστειρωμένων τεχνικών και σε ένα ελεγχόμενο περιβάλλον θερμοκρασίας, πραγματοποιούνταν μέση λαπαροτομή (*Εικόνα 3*). Η διαδικασία στους sham αρουραίους πραγματοποιούνταν με διατομή του ειλεού, 10 εκατοστά εγγύτερα της ειλεοτυφλικής βαλβίδας και επαναστόμωση. Η εντερεκτομή του 75% του λεπτού εντέρου πραγματοποιούνταν με εκτομή του τμήματος 5 εκ. περιφερικά του συνδέσμου του Treitz έως 10 εκατοστά κεντρικά της ειλεοτυφλικής βαλβίδας (*García-Urkia et al, 2008*). Όλες οι αναστομώσεις πραγματοποιούνταν με τη χρήση διακεκομμένων ραμμάτων 7/0 Vicryl. Η σύγκλιση της κοιλιάς γινόταν ανά στρώματα με συνεχές ράμμα 4/0 Ethilon. Πριν τη σύγκλιση του κοιλιακού τοιχώματος εγχύονταν στην περιτοναϊκή κοιλότητα 2 cc ζεστού φυσιολογικού ορού προς ανάνηψη. Μετά την εγχείρηση τα ζώα μεταφέρονταν στα κλουβιά τους με ελεύθερη πρόσβαση σε νερό από την πρώτη μέρα και σε τροφή από την τέταρτη μέρα. Τα ζώα που ευθανατώθηκαν 14 μέρες μετά την εγχείρηση παρακολουθούνταν καθημερινά για τις μεταβολές του βάρους και την επιβίωσή τους.

3.6. Μέθοδος ευθανασίας- Συλλογή δειγμάτων- Αντικείμενα έρευνας

Στο τέλος του πειραματισμού τα ζώα αναισθητοποιούνταν με τη χρήση εισπνεόμενου διαιθυλαιθέρα και ευθανατώνονταν με έως θανάτου αφαίμαξη (*García-Urkia et al, 2008*) (*Εικόνα 4*). Ειδικότερα, κάτω από άσηπτες συνθήκες διενεργούνταν μέση λαπαροτομή και θωρακοτομή. Τρία ml αίματος συλλέγονταν μετά από καθετηριασμό της πυλαίας φλέβας και ακόμα 4 ml μετά από καθετηριασμό

της κοιλιακής αορτής και χρησιμοποιούνταν για αιμοκαλλιέργεια των προς αλλόθεση βακτηρίων και για τον προσδιορισμό των επιπέδων βακτηριακού λιποπολυσακχαρίτη στον ορό. Τμήματα μεσεντερικού ιστού, ήπατος, σπλήνα, πνεύμονα, καρδιάς και λεπτού εντέρου συλλέχθηκαν με τη χρήση διαφορετικών νυστεριών και χρησιμοποιήθηκαν για τριπλό σκοπό: πρώτον, μέρος τους καλλιεργήθηκε αρχικά προς ποιοτική και ποσοτική ανίχνευση των αλλοθέντων βακτηρίων· δεύτερον, το λεπτό έντερο εξετάστηκε ιστολογικά προς μέτρηση του ύψους των λαχνών και της λεμφοκυτταρικής επιθηλιακής διήθησης και τρίτον με τη βοήθεια της ανοσοϊστοχημείας μελετήθηκε το φαινόμενο της απόπτωσης στους διάφορους ιστούς.

3.7. Ανάλυση βακτηριακής αλλόθεσης

Μετά τη μέση λαπαροτομή και την αιμοληψία, όπως αναφέρθηκαν προηγουμένως, τμήματα 1.5 με 2.5 γρ. μεσεντερίου, ήπατος και σπληνός συλλέχθηκαν με διαφορετικές λεπίδες και τοποθετήθηκαν σε διαφορετικά αποστειρωμένα τριβλία, όπου διενεργήθηκε ποσοτική και ποιοτική καλλιέργεια (Eizaguirre *et al*, 2002). Όγκος 0.5 cc περιφερικού αίματος προστέθηκε σε μπουκάλια αιμοκαλλιέργειας μαζί με 20 ml καλλιεργητικού μέσου/ θειογλυκικό νάτριο (Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA) και επώαστηκε στους 35 βαθμούς σε αυτόματο επωαστή. Η επώαση ολοκληρωνόταν όταν έδινε θετικό σήμα ο επωαστής μέχρι περίοδο τριών ημερών. Όγκος 1 ml αίματος τοποθετήθηκε σε τριβλία άγαρ McConkey και η αναγνώριση των αποικιών γινόταν με τα συστήματα API20E και API20NE (bioMérieux, Paris, France).

Η επεξεργασία των ιστών πραγματοποιούνταν αμέσως μετά τη συλλογή τους. Οι ιστοί ζυγίζονταν, ομογενοποιούνταν και ακολοθούσαν οι διαδοχικές διαλύσεις με την προσθήκη 0.1 ml καλλιεργητικού μέσου σε αναλογία 1:10 με φυσιολογικό ορό

για 4 διαδοχικές φορές. Ποσότητα 0.1 ml διαλύματος τοποθετούνταν σε McConkey, αιματούχο και Saburaud άγαρ (Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA) και επωάζονταν στους 35 βαθμούς για συνολική περίοδο τριών ημερών. Ο αριθμός των ζώντων αποικιών μετρούνταν σε κάθε διάλυση και πολλαπλασιάζονταν με τον αντίστοιχο συντελεστή διάλυσης. Το κατώτερο όριο ανίχνευσης ήταν 10 αποικίες ανά γραμμάριο [colony-forming units (cfu/g)]. Ο αριθμός των ζώντων κυττάρων εκφράστηκε ως $\log_{10}$ τιμή cfu/g. Η βακτηριακή αλλόθεση θεωρήθηκε θετική όταν ανιχνεύονταν καλλιεργητικά τουλάχιστον ένα βακτήριο εντερικής προέλευσης και ταξινομούνταν σε τρία επίπεδα: α. τοπικό, μεσεντέριοι λεμφαδένες (επίπεδο I), β. περιοχικό, ήπαρ (επίπεδο II), γ. συστηματικό, περιφερικό αίμα, σπλήνας (επίπεδο III).

3.8. Ανάλυση ύψους λαχνών- Λεμφοκυτταρικής διήθησης βλεννογόνου λεπτού εντέρου

Ιστολογικά τεμάχια από παρόμοια εντερικά σημεία (περιφερικά και κεντρικά της αναστομωτικής επιφάνειας) μήκους 1 εκ., όπως επίσης και ιστοτεμάχια ήπατος, σπληνός, καρδιάς και πνεύμονα τοποθετήθηκαν άμεσα σε διάλυμα φορμόλης 10% και αφού ξεπλύθηκαν με αιθυλική αλκοόλη, εμβαπτίστηκαν σε παραφίνη. Εγκάρσιες τομές ενός μικρόμετρου παρασκευάστηκαν σε πλακίδια καλυμμένα με ορό και χρώστηκαν με αιματοξυλίνη- εωσίνη (*Mogilner et al, 2007*).

3.9. Ανάλυση απόπτωσης

Επιλέξαμε και εφαρμόσαμε τα μονοκλωνικά αντισώματα κασπάσης 3 (Asp175) (Cell Signaling Technology, USA) σε διάλυση 1: 400 και της κασπάσης 8 NovocastraTM Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody (11B6, Leica Microsystems, UK) (Product Code: NCL-CASP-8) σε διάλυση 1: 15 (*Mogilner et al,*

2007). Το πρωτόκολλο ανοσοϊστοχημείας για αυτά τα αντιγόνα εφαρμόστηκε σε τομές 1 μικρόμετρου, όπως περιγράφηκε παραπάνω. Από τις τομές αφαιρέθηκε αρχικά η παραφίνη με ξυλένιο και αφυδατώθηκαν στη συνέχεια με διαβαθμισμένη αιθανόλη. Τελικά, έγινε η χρώση ανοσοϊστοχημείας για το καθένα από τα αντισώματα σύμφωνα με πρωτόκολλο EN Vision+ (Dako, Denmark), με τη χρήση αυτόματου συστήματος χρώσης (Leica Bond Max – Leica Microsystems, Germany) και σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή. Για τα αρνητικά δείγματα ελέγχου δεν εφαρμόστηκαν τα πρωτογενή αντισώματα. Η κυτταροπλασματική- μεμβρανική ή υπομεμβρανική- και η πυρηνική χρώση θεωρήθηκαν αποδεκτές για την κασπάση 3 και 8, αντίστοιχα.

Για την αξιολόγηση των ανοσοϊστοχημικών αποτελεσμάτων όχι μόνο ποιοτικά αλλά με μεγαλύτερη ακρίβεια και ταχύτητα, εφαρμόσαμε την ψηφιοποιημένη ανάλυση εικόνας (computerized image analysis/CIA) με τη χρήση ενός ημιαυτόματου συστήματος με τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: Intel Pentium Dual core 23-bit, bright-field microscope Nikon Eclipse TE300 & Nikon digital camera DS, Nikon Corp, Tokyo, Japan και το ακόλουθο πρόγραμμα: Windows XP/ NIS-Elements AR v3.0, Nikon Corp, Tokyo, Japan. Οι μετρήσεις του επιπέδου έντασης της χρώσης των κασπασών (πρότυπα κυτταροπλασματικής/ πυρηνικής χρώσης) πραγματοποιήθηκαν σε 5 οπτικά πεδία ανά περίπτωση και σε μεγένθυση 400X. Κατόπιν, δημιουργήσαμε μία ψηφιακή βιβλιοθήκη που συμπεριλάβαμε τα αναφερθέντα πεδία και προσαρμόστηκε το μικροσκόπιο. Με τη βοήθεια του μικροσκοπίου μετρήθηκαν όλες οι κεγχρωσμένες περιοχές ανά περίπτωση στα αντίστοιχα οπτικά πεδία και τα τελικά αποτελέσματα καταχωρήθηκαν σε φακέλους Excel. Σε ένα ορθογώνιο ενεργό παράθυρο στην οθόνη του υπολογιστή κάθε pixel περιείχε μία τιμή 24 bit, η οποία ονομάζεται RGB- τριπλέτα. Αυτή η τριπλέτα είναι

κατασκευασμένη από τρία ξεχωριστά δείγματα των 8 bit. Κάθε δείγμα αντιπροσωπεύει το επίπεδο φωτεινότητας του αντίστοιχου διαύλου χρώματος: κόκκινο, μπλε ή πράσινο. Οι διαβαθμίσεις αυτές φωτεινότητας εκφράζονται με μία κλίμακα από το 0 έως το 255. Τιμές που προσεγγίζουν το μηδέν εκφράζουν υψηλά επίπεδα φωτεινότητας, ενώ αυτές που τείνουν προς το 255 σχετίζονται με χαμηλά επίπεδα έντασης.

3.10. Ανάλυση λιποπολυσακχαριτών

Ένα χιλιοστόλιτρο του ληφθέντος αίματος τοποθετήθηκε σε καλλιεργητικά φιαλίδια και το υπόλοιπο σε πειραματικούς σωληνίσκους. Μετά από φυγοκέντρηση ο ορός καταψύχθηκε στους -70°C και διατηρήθηκε μέχρι την ανάλυσή του. Για τον προσδιορισμό του λιποπολυσακχαρίτη δείγματα ορού 20 μικρόλιτρων από την πυλαία φλέβα και την κοιλιακή αορτή υπέστησαν διαδοχικές διαλύσεις σε αναλογία 1:10 με στείρο μη πυρετογόνο ύδωρ (BioWhitaker, Walkersville, MD, USA) και επώαστηκαν για 5 λεπτά στους 70°C . Η συγκέντρωση του λιποπολυσακχαρίτη υπολογίστηκε με τη χρήση της δοκιμασίας αμοιβαδοκυτταρικής λυσίνης (QCL-1000 Limulus amoebocyte lysate assay) (BioWhitaker, κατώτερο όριο ανίχνευσης 0.05 eu/ml) με τη χρήση μίας συγκεκριμένης καμπύλης που δημιουργήθηκε από γνωστές συγκεντρώσεις λιποπολυσακχαρίτη κολοβακτηριδίου συγκεκριμένου ορότυπου (*Escherichia coli* serotype O111:B4). Η επαλήθευση των αποτελεσμάτων έγινε εις διπλούν και ο μέσος όρος των δύο παρατηρήσεων χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση των αποτελεσμάτων (Tian *et al*, 2009).

3.11. Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα (συνεχείς μεταβλητές, όπως περιγράφονται παρακάτω) ελέγχθηκαν για την κανονικότητα (Kolmogorov-Smirnov και Shapiro-Wilk έλεγχοι, normal QQ plots) και την ομοσκεδαστικότητά τους (έλεγχος Levene) και ανάλογα με τα αποτελέσματα εφαρμόστηκαν παραμετρικά ή μη τεστ (*García-Urkia et al, 2008*). Όλες οι τιμές των συνεχών μεταβλητών [μέση ημερήσια ποσοστιαία μεταβολή βάρους σε σχέση με την αρχική (τιμές %), επίπεδα έκφρασης- φωτεινότητας κασπασών (τιμές 0-255), ποσοτική καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεσεντέριους λεμφαδένες και ήπαρ ($\log_{10}$ cfu/gr), ύψος λαχνών λεπτού εντέρου (μm), επίπεδα λιποπολυσακχαρίτη αίματος από πυλαία φλέβα και κοιλιακή αορτή (eu/ml)] εκφράστηκαν με τους μέσους και την τυπική τους απόκλιση (means $\pm$ SD). Οι τιμές των κατηγορικών μεταβλητών [επίπεδα λεμφοκυτταρικής διήθησης (τιμές από 1-3/ασθενές-μέτριο-ισχυρό σήμα), ποσοστό βακτηριακής αλλόθεσης (τιμές %)] παρουσιάστηκαν με τον απόλυτο αριθμό (n) και τη σχετική τους συχνότητα (%).

Πρωταρχικό βήμα στη στατιστική μεθοδολογία του κυρίως ερευνητικού πρωτοκόλλου ήταν η διατύπωση αρχικά της μηδενικής υπόθεσης (null hypothesis), ότι δηλαδή η ανεξάρτητη μεταβλητή (συμβιωτικά) δεν επιδρά στην εξαρτημένη μεταβλητή (σύνδρομο βραχέος εντέρου) ή $H_0: \mu_1=\mu_2=\mu_3=\mu_4=\mu_5=\mu_6=\mu_7$ και στη συνέχεια της εναλλακτικής υπόθεσης H_1 : όπου δύο τουλάχιστον από τις $\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_7$ διαφέρουν μεταξύ τους. Κατά τον έλεγχο για την απόρριψη ή μη της μηδενικής υπόθεσης ορίστηκε ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ή επίπεδο α η τιμή 0.05 που καθορίζει τη μέγιστη πιθανότητα τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης να οφείλονται σε σφάλματα ή τυχαίους παράγοντες, ενώ η εναλλακτική υπόθεση ήταν μη κατευθυνόμενη-αμφίπλευρη (two-sided).

Ως βασική στατιστική μέθοδος ελέγχου των μέσων τιμών των 7 πληθυσμιακών ομάδων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης προς ένα παράγοντα (one-way analysis of variance-ANOVA). Η ANOVA ως κατεξοχήν παραμετρική διαδικασία, απαιτεί την πλήρωση συγκεκριμένων προϋποθέσεων, οι οποίες ελέγχθηκαν πριν την εφαρμογή της. Αρχικά πληρείτο η προϋπόθεση της τυχειότητας και της ανεξαρτησίας των δειγμάτων, καθώς και το γεγονός ότι το μέγεθος του δείγματος ήταν αρκετά μεγαλύτερο από το ελάχιστο (>30). Επίσης ικανοποιείτο η θεμελιώδης προϋπόθεση της κανονικότητας των κατανομών των μεταβλητών των δειγμάτων που ελέγχθηκε με την εφαρμογή του Kolmogorov–Smirnov test. Τέλος ίσχυε το κριτήριο της ισότητας των διακυμάνσεων των μεταβλητών (ομοσκεδαστικότητα) με την εφαρμογή του κριτηρίου του Levene. Στην περίπτωση που η ανάλυση διακύμανσης απέρριπτε την μηδενική υπόθεση (τιμή-F στατιστικώς σημαντική), προκειμένου να προσδιοριστεί ποιες ακριβώς μέσες τιμές διαφέρουν μεταξύ τους, διενεργήθηκε εκ των υστέρων έλεγχος πολλαπλών συγκρίσεων (multiple comparison test). Με βάση την αρχή του πειραματικού σχεδιασμού που επεδίωκε μεγαλύτερη προστασία από σφάλματα τύπου I (εσφαλμένη απόρριψη της μηδενικής υπόθεσης, ενώ είναι αληθής), αλλά και του αριθμού των προκύπτοντων ανά ζεύγη ανεξαρτήτων ελέγχων ($n=21$), εφαρμόστηκε ως post hoc τεστ το κριτήριο Bonferroni. Σε περίπτωση που λόγω μεγάλης ανομοιογένειας του δείγματος δεν διασφαλίστηκε η ισότητα των διακυμάνσεων (κριτήριο Levene, $p<0.05$) εκτελέστηκε η ANOVA με το τεστ κατά Brown- Forsythe και ως post hoc τεστ επιλέγει το Dunnett's T3.

Αναλυτικότερα, οι διαφορές των μέσων μεταξύ των ομάδων όσον αφορά στις μετρήσεις των επιπέδων έκφρασης- φωτεινότητας κασπασών (τιμές 0-255) (κανονικά δεδομένα) προσδιορίστηκαν με τη χρήση της μονόδρομης ανάλυσης διακύμανσης

(one way analysis of variance/ ANOVA), ακολουθούμενης από το τεστ πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni's post hoc multiple comparison test), όταν προέκυπτε στατιστικά σημαντική τιμή F. Σε περίπτωση μη ισότητας των διακυμάνσεων χρησιμοποιήθηκε ο αντίστοιχος έλεγχος ANOVA κατά Brown- Forsythe (έλεγχος ισότητας μέσων- ασυμπτωτική F κατανομή) [(μέση ημερήσια ποσοστιαία μεταβολή βάρους σε σχέση με την αρχική (τιμές %), ποσοτική καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεσεντέριους λεμφαδένες και ήπαρ ($\log_{10}$ cfu/gr), επίπεδα λιποπολυσακχαρίτη αίματος από πυλαία φλέβα και κοιλιακή αορτή (eu/ml), ύψος λαχνών λεπτού εντέρου (μm)]. Η σύγκριση των μέσων μεταξύ των ομάδων ανά ζεύγη έγινε με τη χρήση του Dunnett T3 ελέγχου (post hoc multiple comparison pairwise test, για ίσα δείγματα ομάδων).

Οι παράμετροι ανάλογα με την κανονικότητα της κατανομής και το είδος της μεταβλητής (συνεχής ή διακριτή) συσχετίστηκαν γραμμικά σύμφωνα με το δείκτη συσχέτισης (Pearson's ή Spearman's 'r' correlation coefficient). Ο δειγματικός συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Pearson (r) αποτελεί ένα μέτρο του βαθμού συνάφειας και αλληλεπίδρασης ανάμεσα σε δύο ποσοτικές μεταβλητές κανονικώς κατανεμημένες, χωρίς όμως να προσδιορίζει αιτιώδη σχέση μεταξύ τους (αίτιο-αιτιατό).

Ο έλεγχος ύπαρξης συσχέτισης των ποιοτικών δεδομένων μεταξύ των ομάδων έγινε με τη χρήση του χ^2 κατά Pearson [(επίπεδα λεμφοκυτταρικής διήθησης (τιμές από 1-3/ασθενές-μέτριο-ισχυρό σήμα), βακτηριακή αλλόθεση (τιμές %)]. Λόγω μη εκπλήρωσης των προϋποθέσεων του χ^2 κριτηρίου, χρησιμοποιήθηκαν πιο αυστηρά στατιστικά μέτρα και κριτήρια συμμετρίας και συσχέτισης των κατηγορικών μεταβλητών, όπως το Cramer's V για τις διακριτές και το Kendall's tau-b για τις διατάξιμες μεταβλητές. Η post hoc σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των μεταβλητών,

καθώς και μεταξύ των ομάδων έγινε με τη μέθοδο των σταθμισμένων καταλοίπων (adjusted standardized residuals), όπου σύμφωνα με την τιμή z (z score) προέκυψαν οι σταθμισμένες σημαντικότητες (p value, Bonferroni adjustment).

Η επιβίωση εκτιμήθηκε σύμφωνα με το δείκτη επιβίωσης (Kaplan–Meier analysis) και οι συγκρίσεις μεταξύ των διαφορετικών ομάδων έγιναν με τη βοήθεια του μη παραμετρικού log-rank ελέγχου. Ο post hoc έλεγχος διορθωμένος κατά Bonferroni χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση της καμπύλης επιβίωσης των ομάδων ανά ζεύγη (pairwise pooled comparison) σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.005$.

Οποιαδήποτε τιμή p κάτω από 0.05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική. Τα επίπεδα σημαντικότητας από τα τεστ πολλαπλών συγκρίσεων ανά ζεύγη προέκυψαν από τη διαίρεση του 0.05 με τον αριθμό των ζευγών προς σύγκριση, σύμφωνα με την post hoc μέθοδο κατά Bonferroni. Το στατιστικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήσαμε, μας παρείχε κατευθείαν το διορθωμένο επίπεδο σημαντικότητας για τις συνεχείς μεταβλητές σε τιμή $p < 0.05$. Για τις κατηγορικές μεταβλητές το επίπεδο σημαντικότητας στην post hoc σύγκριση υπολογίστηκε χειροκίνητα και αναφέρθηκε σε κάθε περίπτωση ξεχωριστά. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος IBM SPSS Statistics 25 (Armonk, NY).

Πίνακας 3. Σύσταση του συμβιοτικού διατροφικού διαιτητικού συμπληρώματος.

Προβιοτικά/ ανά 10 ml προϊόντος	50 mg 6×10^8 cfu/g 5×10^8 cfu/g 15×10^8 cfu/g 2×10^8 cfu/g 15×10^8 cfu/g	Saccharomyces cerevisiae Lactobacillus sporogenes Lactobacillus acidophilus Streptococcus thermophylus Lactobacillus bulgaricus Bifidobacterium bifidum
Πρεβιοτικά	Ίνες γλυκοολιγοσακχαριτών 10%	
Σύμπλεγμα Β βιταμινών	B1, B2, B6, B12	

Πίνακας 4. Πειραματικός Σχεδιασμός.

α/ α	Ομάδα	Είδος τροφής	Είδος επέμβασης	Ημέρα ευθανάτωσ ης	Ζωικά πρότυπα που απεβίωσ αν	Τελικός αριθμός ζωικών προτύπ ων	Προεγχειρητι κή χορήγηση συμβιοτικού σκευάσματος
1	Control	Κανονική	Καμία	15 ^η	0	10	Όχι
2	Contolsy m	Προσθήκη συμβιοτικ ών	Καμία	15 ^η	0	10	Όχι
3	Sham	Κανονική	Εντεροδιατο μή και αναστόμωση	15 ^η	3	10	Όχι
4	Sbs	Κανονική	Εντερεκτομή και αναστόμωση	15 ^η	10	10	Όχι
5	Ssym	Προσθήκη συμβιοτικ ών	Εντερεκτομή και αναστόμωση	15 ^η	6	10	Όχι
6	Sd	Κανονική	Εντερεκτομή και αναστόμωση	0	0	10	Ναι για 7 ημέρες
7	Ss	Προσθήκη συμβιοτικ ών	Εντερεκτομή και αναστόμωση	0	0	10	Ναι για 7 ημέρες

Εικόνα 2. Φιλοξενία ζωικών προτύπων σε κλωβούς από Plexiglas. Σημειώνεται η παρουσία του ενισχυμένου με συμβιοτικά πόσιμου διαλύματος, η κλασική εντερική διατροφή των πειραματόζων και τα προβλεπόμενα μέσα υγιεινής.



Εικόνα 3. Εγχειρητική διαδικασία πειραματισμού των ζωικών προτύπων. Σημειώνονται οι άσηπτες διεγχειρητικά συνθήκες (αριστερά) και η παρουσία των διακεκομμένων ραμμάτων εντεροαναστόμωσης (δεξιά).



Εικόνα 4. Διαδικασία και μέσα ευθανάτωσης ζωικών προτύπων (αριστερά)- Συλλογή αίματος και ιστών προς επεξεργασία (δεξιά).



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. Επιβίωση και διαφοροποιήσεις βάρους

Η εκσεσημασμένη εντερεκτομή είναι μία άκρως ακρωτηριαστική χειρουργική διαδικασία που οδηγεί σε μείζονες τροφικές διαφοροποιήσεις, που εκφράζονται με αντίστοιχες μεταβολές του βάρους. Οι μεταβολές αυτές αφορούν φυσικά στα ζώα που ευθανατώθηκαν στις 15 μέρες μετά τον πειραματισμό. Τα ζώα που ευθανατώθηκαν στις 6 ώρες δεν παρουσίασαν σημαντική μεταβολή του βάρους τους, όπως ήταν αναμενόμενο και κατά συνέπεια οι δύο τελευταίες ομάδες (sd, ss) δεν συμπεριελήφθησαν στο συγκεκριμένο κομμάτι της μελέτης. Η γενικότερη τάση ήταν μεγαλύτερη απώλεια βάρους στις 5 πρώτες ημέρες, σταθεροποίηση στις επόμενες 5 και αύξηση στην τελική περίοδο. Η ανάκτηση του βάρους σώματος στις ομάδες που υπέστησαν τροφικό χειρισμό με συμβιοτικά, προσέγγισε σε μερικές περιπτώσεις το προεγχειρητικό βάρος (*Γράφημα 1*).

Ο έλεγχος κανονικότητας και ομοσκεδαστικότητας των δεδομένων δεν απέρριψε τη μηδενική υπόθεση ότι κατανέμονται κανονικά και για τις 5 ομάδες (Shapiro-Wilk Sig.>0.05, Kolmogorov-Smirnov Sig.>0.05), ενώ απορρίφθηκε η μηδενική υπόθεση της ισότητας των διακυμάνσεων (Levene test, Sig.<0.001).

Επιλέχθηκε κατά συνέπεια ο στατιστικός έλεγχος κατά ANOVA/ Brown-Forsythe, ο οποίος κατέδειξε ότι η μέση τιμή της μέσης ημερησίας ποσοστιαίας μεταβολής του σωματικού βάρους των επίμυων ανά ομάδα στο τέλος του 15ήμερου πειραματισμού σε σχέση με την έναρξη, διαφέρει στατιστικά σημαντικά τουλάχιστον μεταξύ ενός ζεύγους ομάδων (Asymp.sig=0.000< α =0.001) (*Πίνακας 5Α*).

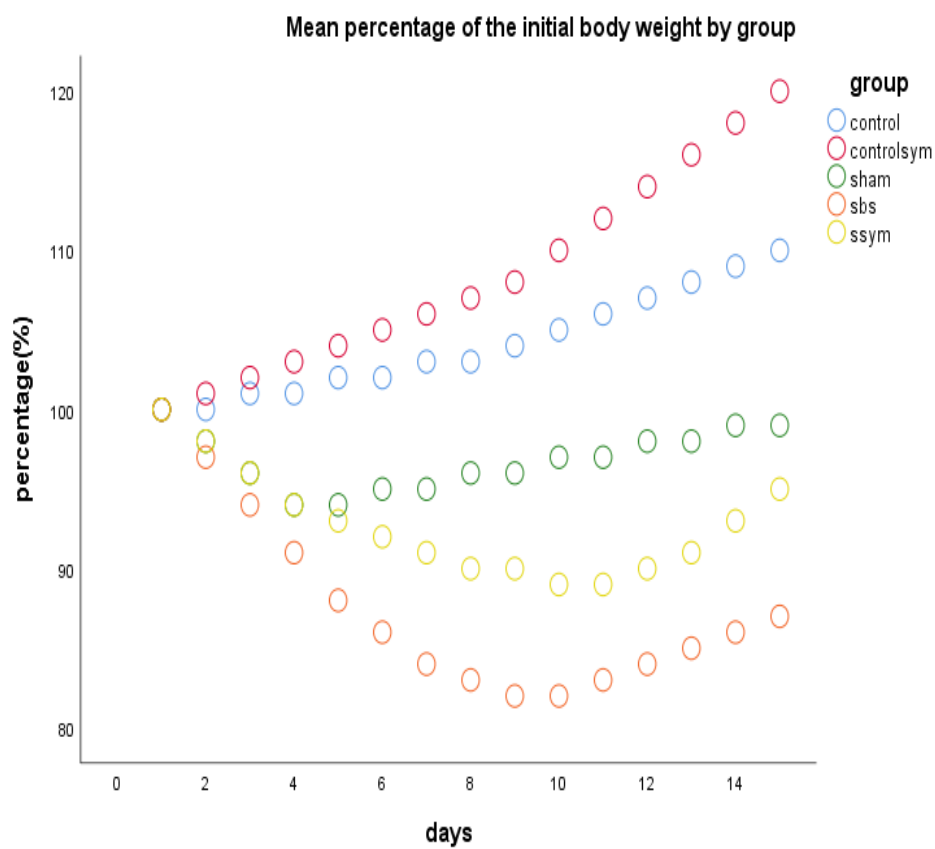
Τα κυριότερα αποτελέσματα από το τεστ πολλαπλών συγκρίσεων (Dunnnett's T3) ανά ζεύγη μεταξύ των ομάδων είναι: control vs sham (104.07±3.283% vs

96.8±1.859%, $p<0.05$), SBS vs SSYM (87.47±5.592% vs 92.73±3.327%, $p<0.05$) και μεταξύ sham vs SBS ($p<0.05$) Στατιστικά σημαντικές διαφορές εντοπίστηκαν μεταξύ όλων των ζευγών σύγκρισης εκτός από control vs controlsym (Πίνακας 5B).

Για τον υπολογισμό των δεδομένων επιβίωσης, ως γεγονός (event) θεωρήθηκε ο θάνατος του ζωικού προτύπου αμέσως μετά την έναρξη του πειραματισμού, που θεωρήθηκε η χειρουργική παρέμβαση· ο χρόνος (σε μέρες) έως το συμβάν που μελετήθηκε, ορίστηκε σύμφωνα με τη στιγμή εξόδου από το πείραμα, δηλαδή την ευθανάτωση των προτύπων τη 15^η ημέρα· ως αποκομμένες (censored) ορίστηκαν οι περιπτώσεις εκείνες φυσιολογικής εξόδου από το πείραμα (ευθανάτωση/15^η μέρα). Η καμπύλη επιβίωσης Kaplan- Meier (Γράφημα 2) κατέδειξε αυξημένο δείκτη επιβίωσης κατά τη διάρκεια του 15ήμερου πειραματισμού στα ζώα που έλαβαν συμβιωτικά. Ειδικότερα, η ομάδα sham, ως το ελάχιστο πρότυπο χειρουργικού στρες, εμφάνισε καλύτερη πρόγνωση σε σχέση με τα ζώα που υπέστησαν εντερεκτομή (10/13=77% επιβίωση). Τα ζώα που ευθανατώθηκαν στις 6 ώρες όπως και τα control παρουσίασαν ως αναμενόμενο επιβίωση 100%. Τα πρώτα (ομάδες sd και ss/ ευθανάτωση στις 6 ώρες) δε χρησιμοποιήθηκαν στο παρόν σημείο της μελέτης, καθώς ήταν τελείως ξεχωριστό το μοντέλο πειραματισμού που χρησιμοποιήθηκε. Οι πέντε πρώτες μέρες ήταν ομοίως οι πιο σημαντικές για την επιβίωση και χαρακτηρίστηκε από αυξημένη θνητότητα. Αυτή η περίοδος χαρακτηρίζεται κυρίως από την τροποποιημένη ανοσιακή απόκριση στη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση και την αυξημένη βακτηριακή αλλόθεση. Οι δύο αυτοί παράγοντες φαίνεται πως επηρεάζουν ισχυρά την αρχική αντίδραση στο χειρουργικό στρες, την επικείμενη οργανική ανεπάρκεια και την επιβίωση, επακόλουθα. Από το στατιστικό έλεγχο διαπιστώσαμε ότι η επιβίωση μεταξύ των ομάδων διαφέρει στατιστικά σημαντικά τουλάχιστον μεταξύ ενός ζεύγους ομάδων (log rank sig. $p=0.012<0.05$). Ο

post hoc έλεγχος ανά ζεύγη διορθωμένος κατά Bonferroni ($p < 0.005$) κατέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στα εξής ζεύγη ομάδων: control, controlsym vs sbs (10/20=50% επιβίωση), ssym (10/16=63% επιβίωση).

Γράφημα 1. Μέσο ποσοστό βάρους σε σχέση με το αρχικό βάρος ανά ομάδα πειραματισμού στην πορεία του χρόνου (ημέρες).



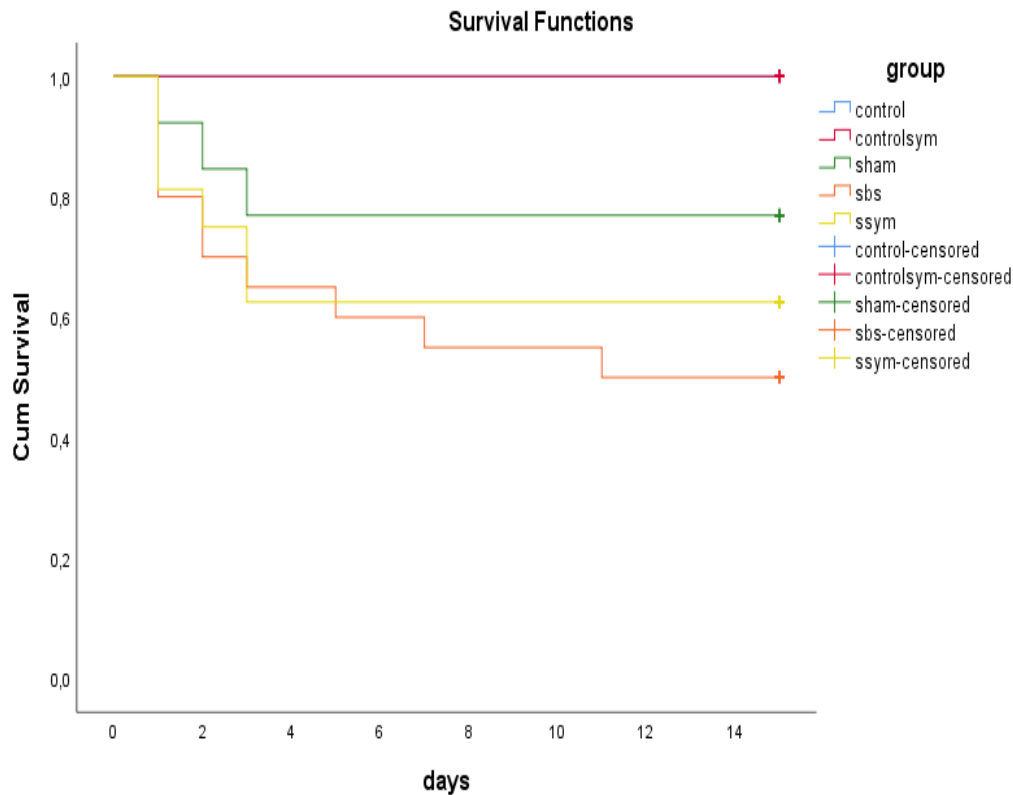
Πίνακας 5Α. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής της μέσης ημερησίας ποσοστιαίας μεταβολής του σωματικού βάρους των επίμυων ανά ομάδα, στο τέλος του 15ήμερου πειραματισμού σε σχέση με την έναρξη.

ΠΟΣΟΣΤΙΑΙΑ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΣΩΜΑΤΙΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ			
Ομάδες (n=10 ανά ομάδα)	Μέσοι± Τυπική απόκλιση	Διάμεσος (εύρος)	Brown- Forsythe Sig.
Control	104.07±3.283	103(100-110)	<i>p<0.001</i>
Controlsym	108.4±6.356	107(100-120)	
Sham	96.8±1.859	97(94-100)	
Sbs	87.47±5.592	86(82-100)	
Ssym	92.73±3.327	92(89-100)	

Πίνακας 5Β. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Dunnett's T3) της μέσης τιμής της μέσης ημερησίας ποσοστιαίας μεταβολής του σωματικού βάρους των επίμυων ανά ομάδα, στο τέλος του 15ήμερου πειραματισμού σε σχέση με την έναρξη.

ΠΟΣΟΣΤΙΑΙΑ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΣΩΜΑΤΙΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ (Sig.)					
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym
Control		0.232	<0.001	<0.001	<0.001
Controlsym	0.232		<0.001	<0.001	<0.001
Sham	<0.001	<0.001		<0.001	0.004
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		0.043
Ssym	<0.001	<0.001	0.004	0.043	

Γράφημα 2. Ανάλυση επιβίωσης – Καμπύλες επιβίωσης Kaplan Meier ανά ομάδα, σύγκριση της συνάρτησης επιβίωσης μεταξύ των ομάδων πειραματισμού (log-rank test $p=0.012<0.05$).



4.2. Βακτηριακή αλλόθεση

Οι ομάδες control και control sym παρουσίασαν 20% βακτηριακή αλλόθεση στους μεσεντέριους λεμφαδένες (επίπεδο I), 0 στο ήπαρ (επίπεδο II) και ομοίως 0 στο περιφερικό αίμα και στο σπλήνα (επίπεδο III), καθώς όπως ήδη έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία η BA έχει παρατηρηθεί σε ποσοστά έως και 20% σε φυσιολογικά άτομα, χωρίς όμως να είναι κλινικά σημαντική, όταν είναι φυσιολογικό το ανοσοποιητικό (Gebbers et al, 2004). Στις υπόλοιπες ομάδες και σε όλα τα επίπεδα τα ποσοστά ήταν αρκετά υψηλά και κυμαίνονταν από 50-100%. Ο στατιστικός έλεγχος

Pearson χ^2 (Asym. Sig. 2-sided=0.000<0.001) κατέδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ομάδας πειραματισμού και της βακτηριακής αλλόθεσης. Η post hoc ανάλυση των αποτελεσμάτων ανά ζεύγη, διορθωμένη κατά Bonferroni κατέδειξε τις στατιστικά σημαντικές σχέσεις που φαίνονται στον πίνακα 6, σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.004$. Ειδικότερα, στις ομάδες control και control sym και στα τρία επίπεδα, καθώς και στην ομάδα sd στο επίπεδο του περιφερικού αίματος, η διαφορά των ποσοστών των ατόμων που παρουσίασαν ή όχι αλλόθεση ήταν στατιστικά σημαντική. Από τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων ανά ζεύγη αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τα ζωικά πρότυπα που παρουσίασαν BA μεταξύ των εξής ομάδων: στους MAN (επίπεδο I) και στο σπλήνα (επίπεδο III): control, control sym vs sbs, sd, ss, ενώ στο ήπαρ (επίπεδο II) control, control sym vs sbs, ssym, sd, ss. Το στατιστικό κριτήριο συσχέτισης Cramer's V κατέδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της ομάδας πειραματισμού και της βακτηριακής αλλόθεσης (τιμές για τα 3 αντίστοιχα επίπεδα: 0.695, 0.801, 0.74, Appr. Sig <0.001).

Κολοβακτηρίδια, εντερόκοκκοι και εντεροβακτηριοειδή (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* και στελέχη *Enterobacter*) ήταν ανάμεσα στους πιο συχνούς μικροοργανισμούς που ανιχνεύθηκαν. Κολοβακτηρίδιο παρουσιάστηκε στο 80% των δειγμάτων αυτών των ζώων, ενώ οι εντερόκοκκοι και τα εντεροβακτηριοειδή ήταν λιγότερο συχνά.

Μετά τη χορήγηση συμβιοτικών οι εντερεκτομηθέντες επίμυες παρουσίασαν συγκέντρωση του βακτηριακού φορτίου σημαντικά ελαττωμένη ($\log_{10}$ cfu/g) (Πίνακας 7Α). Η θεραπεία με συμβιοτικά άλλαξε επίσης και τη συχνότητα εμφάνισης παθογόνων βακτηρίων. Κολοβακτηρίδιο ανιχνεύθηκε στο 50% των δειγμάτων σε σχέση με το 80% που παρουσιάστηκε στα ζώα που δεν έλαβαν συμβιοτικά, ενώ άλλα

gram αρνητικά βακτήρια παρουσιάστηκαν στο υπόλοιπο 50% των δειγμάτων. Η ανίχνευση της βακτηριακής αλλόθεσης λακτοβάκιλλων και σακχαρομύκητων πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά από τη βακτηριακή καλλιέργεια των εντερικών μικροοργανισμών, χωρίς να παρατηρηθεί ανάπτυξή τους σε κανέναν από τους προς εξέταση ιστούς.

Ο έλεγχος κανονικότητας και ομοσκεδαστικότητας των δεδομένων δεν απέρριψε τη μηδενική υπόθεση ότι κατανέμονται κανονικά και για τις 7 ομάδες (Shapiro-Wilk Sig.>0.05, Kolmogorov-Smirnov Sig.>0.05), ενώ απορρίφθηκε η μηδενική υπόθεση της ισότητας των διακυμάνσεων (Levene test, Sig.<0.001).

Ο στατιστικός έλεγχος κατά Brown- Forsythe κατέδειξε ότι μέση τιμή της ποσοτικής συγκέντρωσης της καλλιέργειας στους ΜΛΑ και στο ήπαρ διαφέρει στατιστικά σημαντικά τουλάχιστον μεταξύ ενός ζεύγους ομάδων (Asymp.sig<0.001< α =0.05). Στατιστικά σημαντικές διαφορές από την post hoc Dunnett's T3 ανάλυση ανά ζεύγη εντοπίστηκαν σε όλες τις ομάδες εκτός από: control vs controlsym, sham και sbs vs ssym και για τους δύο ιστούς καθώς και sbs vs ss για το ήπαρ μόνο (Πίνακας 7B).

Αναδείχθηκε επίσης, ισχυρά θετική γραμμική συσχέτιση ('r' Pearson's correlation: 0.952, $p < 0.001$) μεταξύ των τιμών του ήπατος και των μεσεντέριων λεμφαδένων, γεγονός που συνεπάγεται ότι αύξηση του ενός προκαλεί αύξηση του άλλου (Γράφημα 3).

Πίνακας 6. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα συσχέτισης του ποσοστού βακτηριακής αλλόθεσης μικροοργανισμών στους ιστούς στις διάφορες ομάδες πειραματισμού.

Βακτηριακή αλλόθεση (ποσοστό %)						
Μεσεντέριοι λεμφαδένες			Ήπαρ		Σπλήνας/ περιφερικό αίμα	
Ομάδες (n=10 ανά ομάδα)		Cramer's v		Cramer's v		Cramer's v
Control	20†	Appr. Sig. <0.001	0†	0.801 Appr. Sig. <0.001	0†	0.74 Appr. Sig. <0.001
Control	10†		0†		0†	
SYM						
Sham	70		60		50	
SBS	100		100		90	
SSYM	80		70		60	
SD	100		100		100†	
SS	90		80		70	

Με † υποδηλώνονται οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των ζωικών προτύπων που εμφάνισαν βακτηριακή αλλόθεση ή όχι στην ίδια ομάδα (adj. residuals, Bonferroni adj. $p < 0.004$).

Πίνακας 7Α. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής της ποσοτικής συγκέντρωσης καλλιέργειας μικροοργανισμών στους διάφορους ιστούς ($\log_{10}$ cfu/gr).

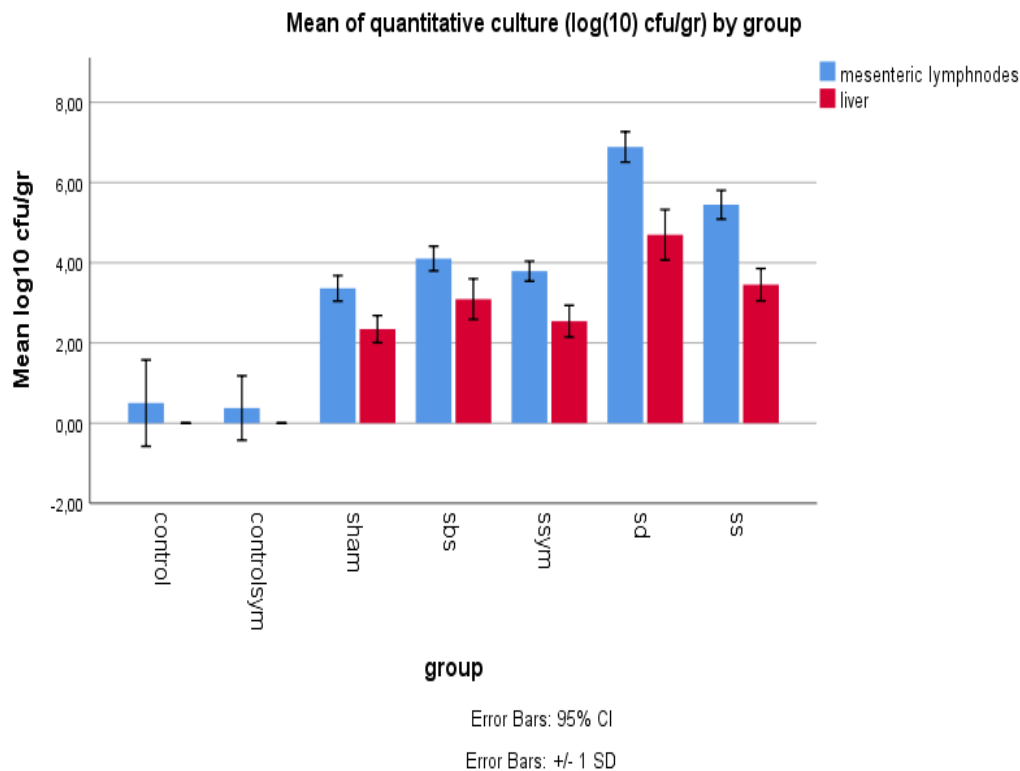
Ποσοτική συγκέντρωση καλλιέργειας μικροοργανισμών στους διάφορους ιστούς ($\log_{10}$ cfu/gr)				
Μεσεντέριοι λεμφαδένες (μέσοι ± τυπική απόκλιση)		Ήπαρ (μέσοι ± τυπική απόκλιση)		
Ομάδες (n=10 ανά ομάδα)		Brown-Forsythe Sig.		Brown-Forsythe Sig.
Control	0.502±1.076	$p < 0.001$	0	$p < 0.001$
Control	0.378±0.802		0	
SYM				
Sham	3.361±0.319		2.345±0.338	
SBS	4.105±0.307		3.093±0.505	
SSYM	3.79±0.247		2.541±0.395	
SD	6.888±0.378		4.698±0.628	
SS	5.445±0.359		3.452±0.403	

Πίνακας 7B. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Dunnett's T3) της μέσης τιμής της ποσοτικής συγκέντρωσης καλλιέργειας μικροοργανισμών στους διάφορους ιστούς ($\log_{10}$ cfu/gr).

Ποσοτική συγκέντρωση καλλιέργειας μικροοργανισμών στους διάφορους ιστούς ($\log_{10}$ cfu/gr) (Sig.)							
ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΙ ΛΕΜΦΑΔΕΝΕΣ							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Controlsym	1		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sham	<0.001	<0.001		<0.001	0.066	<0.001	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		0.307	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	0.066	0.307		<0.001	<0.001
Sd	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001
Ss	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
ΗΠΑΡ							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Controlsym			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sham	<0.001	<0.001		0.025	0.988	<0.001	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	0.025		0.22	<0.001	0.794
Ssym	<0.001	<0.001	0.988	0.22		<0.001	0.002
Sd	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		0.002
Ss	<0.001	<0.001	<0.001	0.794	0.002	0.002	

Γράφημα 3. Μέση τιμή ποσοτικής καλλιέργειας ιστού μεσεντέριων λεμφαδένων (μπλε) και ήπατος (κόκκινο) ανά ομάδα πειραματισμού ($\log_{10}$ cfu/gr).

(Pearson's r : **0.952**, **sig.<0.001**)



4.3. Ύψος λαχνών- Βλεννογόνια λεμφοκυτταρική διήθηση

Η μικροσκοπική ανάλυση του υπολειπόμενου εντέρου 2 εβδομάδες μετά την εντερεκτομή αποκάλυψε τις χαρακτηριστικές αλλαγές της εντερικής προσαρμογής (Εικόνα 5).

Ο έλεγχος κανονικότητας και ομοσκεδαστικότητας των δεδομένων δεν απέρριψε τη μηδενική υπόθεση ότι κατανέμονται κανονικά και για τις 7 ομάδες (Shapiro-Wilk Sig.>0.05, Kolmogorov-Smirnov Sig.>0.05), ενώ απορρίφθηκε η μηδενική υπόθεση της ισότητας των διακυμάνσεων (Levene test, Sig.<0.001).

Ο στατιστικός έλεγχος κατά Brown- Forsythe κατέδειξε ότι μέση τιμή του ύψους των λαχνών διαφέρει στατιστικά σημαντικά τουλάχιστον μεταξύ ενός ζεύγους ομάδων (Asymp.sig<0.001< α =0.05) (Πίνακας 8Α).

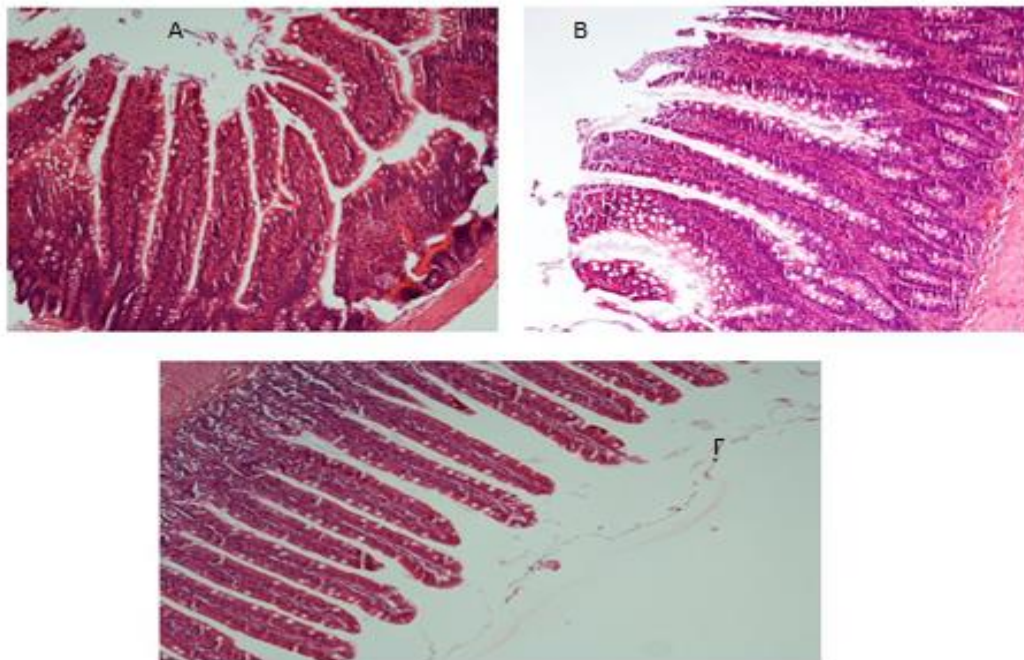
Η ανά ζεύγη σύγκριση των ομάδων (Dunnett's T3 post hoc pairwise analysis) που ακολούθησε κατέδειξε ότι οι SBS επίμυες (787.154±17.523 μ m) παρουσίασαν σημαντική αύξηση του ύψους των λαχνών σε σχέση με τα sham ζώα (717.379±18.399 μ m, p <0.05), ενώ οι SSYM επίμυες (905.236± 54.892 μ m) ακόμα μεγαλύτερη αύξηση (vs SBS επίμυες, p <0.05) (Πίνακας 8Β). Στατιστικά σημαντικές διαφορές εντοπίστηκαν μεταξύ όλων των ζευγών, εκτός από: controlsym, sham vs ss.

Επιπρόσθετα, η βλεννογόνια λεμφοκυτταρική διήθηση, ως ένδειξη τοπικής ανοσολογικής αντίδρασης στη βακτηριακή πληθυσμιακή υπερανάπτυξη, προσδιορίστηκε με τη βοήθεια κλίμακας της έντασης του σήματος (από 1 έως 3, ήπια μέχρι εκσεσημασμένη εμφάνιση του φαινομένου). Η χορήγηση συμβιοτικών, όπως και ο μικρότερος περιεγχειρητικός χρόνος (sham επίμυες) οδήγησαν σε ηπιότερη φλεγμονώδη αντίδραση στον εντερικό βλεννογόνο, όπως φαίνεται από τα ποσοστά του πίνακα 9. Ο στατιστικός έλεγχος Pearson X^2 (Asym. Sig. 2-sided=0.00<0.001) κατέδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ομάδας πειραματισμού και του επιπέδου διήθησης. Η post hoc ανάλυση με το z score των αποτελεσμάτων ανά ζεύγη, διορθωμένη κατά Bonferroni κατέδειξε τις στατιστικά σημαντικές σχέσεις που φαίνονται στον πίνακα 9, σε επίπεδο σημαντικότητας p <0.002. Ειδικότερα, στις ομάδες control και control sym η ασθενής ένταση σήματος, καθώς και στην ομάδα sd η ισχυρή παρατηρήθηκε πως η διαφορά των ποσοστών των ατόμων που παρουσίασαν τη συγκεκριμένη ένταση σήματος ήταν στατιστικά σημαντική σε σχέση με τα άλλα επίπεδα στην ίδια ομάδα. Το στατιστικό κριτήριο συσχέτισης Kendall's tau-b κατέδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική ισχυρή

συσχέτιση μεταξύ της ομάδας πειραματισμού και του επιπέδου της έντασης της χρώσης (0.682, Appr. Sig <0.001).

Η εφαρμογή του συντελεστή γραμμικής συσχέτισης r κατά Spearman μεταξύ της συνεχούς (ύψος λαχνών) και της διατάξιμης μεταβλητής (ένταση σήματος) δεν κατέδειξε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.

Εικόνα 5. Διαδικασία εντερικής προσαρμογής στο τέλος του πειραματισμού. Χρώση αιματοξυλίνης- εωσίνης. Διακρίνουμε το ύψος των λαχνών και το βάθος των κρυπτών σε κάθε περίπτωση (Α=ομάδα control, Β= ομάδα sham, Γ= ομάδα sbs).



Πίνακας 8Α. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής του ύψους των λαχνών του λεπτού εντέρου (μm) στις ομάδες πειραματισμού.

ΥΨΟΣ ΛΑΧΝΩΝ ΛΕΠΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ (μm)		
Ομάδες (n=10 ανά ομάδα)	Μέσοι± Τυπική απόκλιση (τιμές με δεκαδικά ψηφία)	Brown- Forsythe Sig.
Control	456.312± 12.565	<i>p<0.001</i>
Controlsym	689.171± 8.518	
Sham	717.379± 18.399	
Sbs	787.154± 17.523	
Ssym	905.236± 54.892	
Sd	548.634± 64.902	
Ss	699.527± 22.757	

Πίνακας 8Β. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Dunnett's T3) της μέσης τιμής του ύψους των λαχνών του λεπτού εντέρου (μm) στις ομάδες πειραματισμού.

ΥΨΟΣ ΛΑΧΝΩΝ ΛΕΠΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ (μm) (Sig.)							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.023	<0.001
Controlsym	<0.001		0.014	<0.001	<0.001	0.001	0.956
Sham	<0.001	0.014		<0.001	<0.001	<0.001	0.681
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	<0.001	0.001		<0.001	<0.001
Sd	0.023	0.001	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001
Ss	<0.001	0.956	0.681	<0.001	<0.001	<0.001	

Πίνακας 9. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα συσχέτισης του επιπέδου έντασης σήματος λεμφοκυτταρικής διήθησης του λεπτού εντέρου στις διάφορες ομάδες πειραματισμού.

Ένταση σήματος βλεννογονικής λεμφοκυτταρικής διήθησης λεπτού εντέρου (απόλυτοι αριθμοί- ποσοστά %)				
Ομάδες (n=10 ανά ομάδα)	Ασθενές=1	Μέτριο=2	Ισχυρό=3	Kendall's tau b
Control	7 (70%)†	3 (30%)	0	Appr. Sig <0.001
Control SYM	10 (100%)†	0	0	
Sham	3 (30%)	7 (70%)	0	
SBS	0	5 (50%)	5 (50%)	
SSYM	0	7 (70%)	3 (30%)	
SD	0	0	10 (100%)†	
SS	0	3 (30%)	7 (70%)	

Με † υποδηλώνονται οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των ζωικών προτύπων που εμφάνισαν το συγκεκριμένο επίπεδο έντασης σε σχέση με τα άλλα επίπεδα στην ίδια ομάδα (**adj. residuals, Bonferroni adj. $p < 0.002$**).

4.4. Απόπτωση

Ο προσδιορισμός της κυτταρικής απόπτωσης έγινε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας και ειδικότερα των πρωτεϊνών κασπάση 3 και κασπάση 8, όπως αναφέρθηκε στη μεθοδολογία. Σύμφωνα με τη διαδικασία της ψηφιακής ανάλυσης εικόνας και ανάλογα με την ομάδα παρουσιάστηκαν υψηλές: 0-125, μέσες: 126-169 και χαμηλές τιμές: 170-255 έκφρασης της πρωτεΐνης (επίπεδα φωτεινότητας). Υπερέκφραση πρωτεϊνών και άρα μεγαλύτερη απόπτωση (μέσες και υψηλές τιμές) παρατηρήθηκαν στο 86% και 100% των τιμών κασπάσης 3 και κασπάσης 8, αντίστοιχα. Ελαττωμένη ή απύσα έκφραση και άρα μικρότερη απόπτωση παρουσιάστηκε στο 14% και 0% των περιπτώσεων αντίστοιχα (Εικόνα 6).

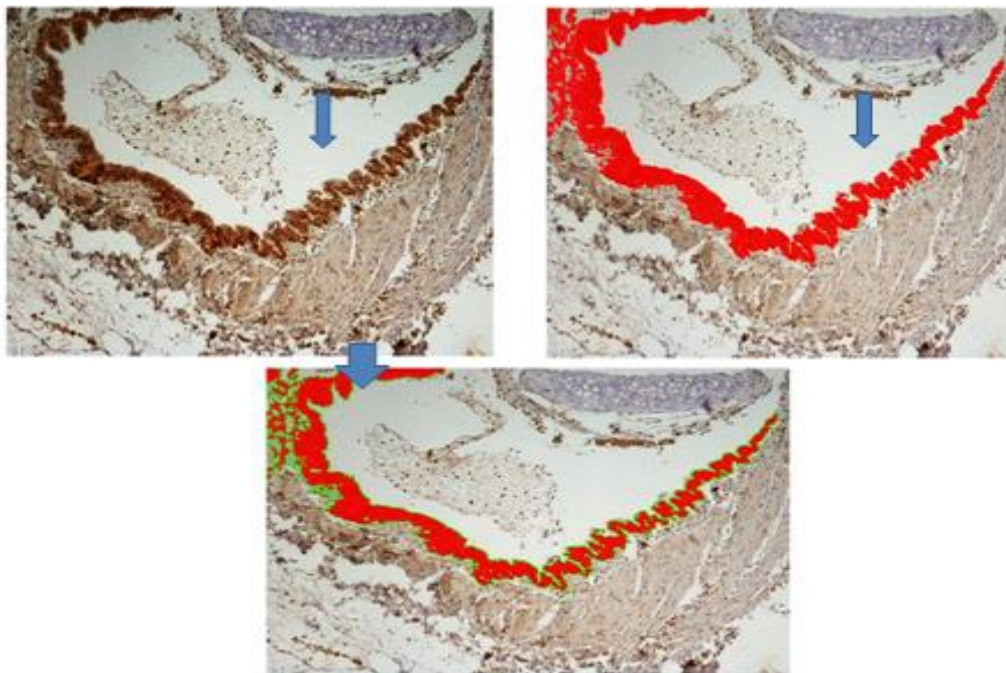
Προκειμένου να αναλυθεί στατιστικά, αντιμετωπίστηκε η συγκεκριμένη μεταβλητή ως συνεχής. Ο έλεγχος κανονικότητας και ομοσκεδαστικότητας των δεδομένων δεν απέρριψε τη μηδενική υπόθεση ότι κατανέμονται κανονικά και για τις 7 ομάδες πειραματισμού για όλους τους ιστούς (λεπτό έντερο, ήπαρ, σπλήνας, πνεύμονας, καρδιά) (Shapiro-Wilk Sig.>0.05, Kolmogorov-Smirnov Sig.>0.05), ενώ δεν απορρίφθηκε και η μηδενική υπόθεση της ισότητας των διακυμάνσεων (Levene test, Sig.>0.05).

Παρουσιάστηκε ισχυρή θετική γραμμική συσχέτιση (Pearson's 'r'>0.8, $p < 0.001$) τόσο μεταξύ των κασπασών 3 και 8 όσο και μεταξύ των διαφορετικών ιστών, γεγονός που σημαίνει ότι αύξηση της μίας μεταβλητής συνεπάγεται αύξηση της άλλης (Γράφημα 4).

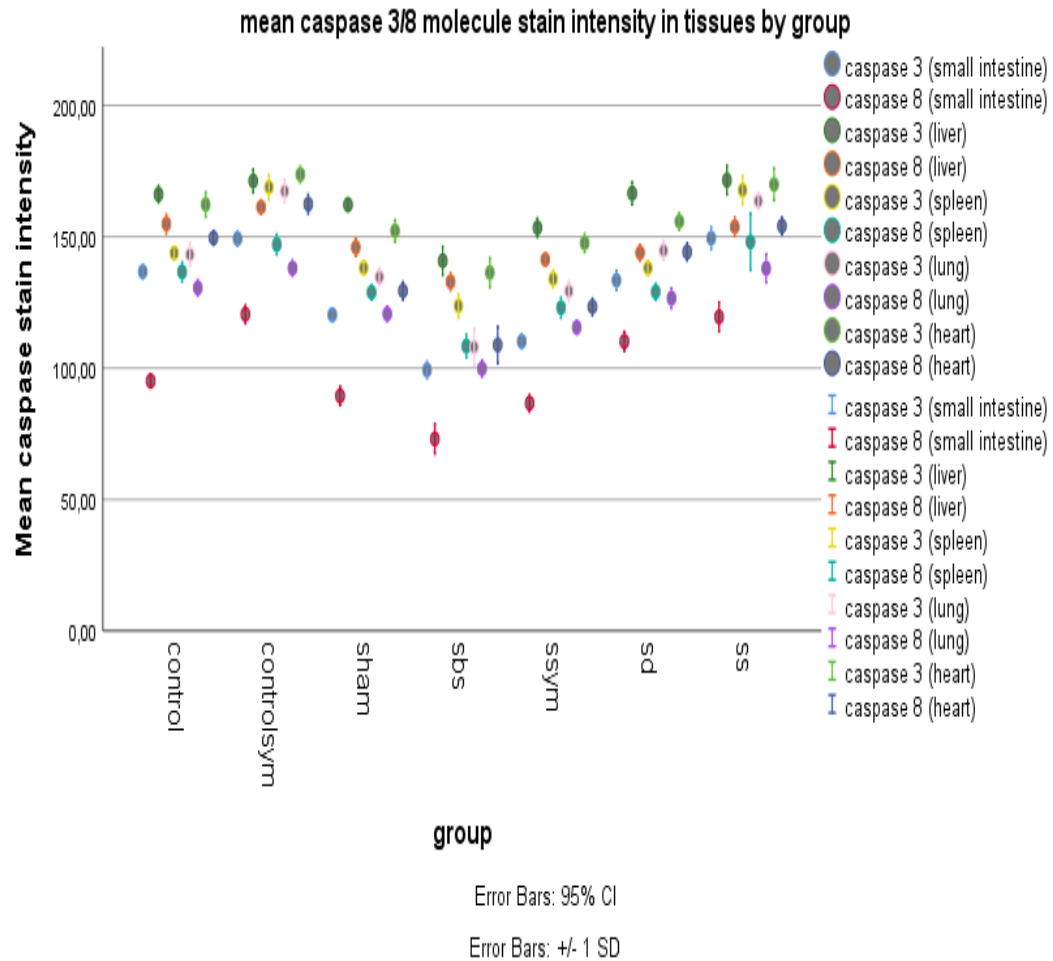
Ο στατιστικός έλεγχος με ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα (one way ANOVA, Bonferroni post hoc multiple comparison test) κατέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) μεταξύ των μέσων τιμών κασπάσης ανάμεσα στις ομάδες και ιδιαίτερα στα ζεύγη ενδιαφέροντος (control vs sham, sham vs SBS, SBS vs SSYM, SS vs SD) (Πίνακες 10Α-Ζ). Προκύπτει δηλαδή, πως τα ζώα που έλαβαν συμβιοτικά (ssym, ss) παρουσίασαν χαμηλότερο αποπτωτικό δείκτη- χαμηλότερο επίπεδο έκφρασης πρωτεΐνης, σε κυτταρικό επίπεδο. Επιπρόσθετα, οι sham επίμυες παρουσίασαν επίσης ηπιότερη απόπτωση σε σχέση με τα ζώα που υπέστησαν εντερεκτομή (sbs, sd). Το φαινόμενο αυτό δεν ήταν απόν φυσικά και από τα control ζώα, ως μία φυσιολογική και συνεχώς παρούσα δυναμική διεργασία. Η εντερική προσαρμογή του υπολειπόμενου εντέρου προήγαγε κατά συνέπεια την αποπτωτική διεργασία, ενώ η χορήγηση συμβιοτικών οδήγησε σε υποέκφραση του σύμπλοκου μορίου των κασπασών 3 και 8 και σε χαμηλότερο αποπτωτικό δείκτη, ως αποτέλεσμα (Πίνακες 10Α-Ζ).

Το καινοτόμο στοιχείο αυτών των μετρήσεων ήταν η αξιολόγηση της αποπτωτικής διεργασίας στο ήπαρ, στον πνεύμονα, στην καρδιά και στον σπλήνα (Εικόνα 7). Η εξέταση αυτή οδήγησε σε ενδιαφέρουσα συσχέτιση της απόπτωσης σε εξωεντερικό οργανικό επίπεδο με τη χορήγηση συμβιοτικών, το χειρουργικό στρες και τη βακτηριακή αλλόθεση.

Εικόνα 6. Μέτρηση του επιπέδου έντασης της χρώσης του μορίου κασπασών 3/8 (πρότυπο χρώσης ανοσοϊστοχημείας πυρήνα- κυτταροπλάσματος) με τη χρήση της Ψηφιακής Ανάλυσης Εικόνας (5 οπτικά πεδία ανά περίπτωση σε μεγένθυση 400χ). Κάθε δείγμα αντιπροσωπεύει το επίπεδο φωτεινότητας του αντίστοιχου χρωματικού διαύλου: κόκκινο, μπλε, πράσινο (βέλη- εντερικός αυλός).



Γράφημα 4. Μέση τιμή της έντασης της χρώσης του μορίου κασπασών 3/8 στους ιστούς ανά ομάδα. Όλες οι μεταβλητές συσχετίζονται γραμμικά ισχυρά θετικά μεταξύ τους (**Pearson's $r>0.8$, sig.<0.001**).



Πίνακας 10Α. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) σε λεπτό έντερο και ήπαρ.

Ομάδες (N=10)	Κυτταρική Απόπτωση-Ένταση χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης κασπασών 3/8					
	Πρωτεϊνική έκφραση: ισχυρή: 0-125, μέτρια: 126-169, ασθενής: 170-255 (μέσοι±τυπική απόκλιση)					
	Όργανα					
	Λεπτό έντερο			Ήπαρ		
	Caspase 3	Caspase 8	ANOVA sig.	Caspase 3	Caspase 8	ANOVA sig.
Control	136.689± 2.784	95.138± 2.587	<i>p<0.001</i>	166.165± 3.225	154.891± 3.736	<i>p<0.001</i>
Control	149.261±	120.531±		171.229±	161.3±	
SYM	2.807	3.467		4.482	2.682	
Sham	120.293±	89.449±		162.178±	145.953±	
	2.576	3.585		2.433	3.311	
SBS	99.302±	73.07±		140.853±	132.886±	
	3.284	5.686		5.463	3.359	
SSYM	110.188±	86.659±		153.412±	141.309±	
	2.824	3.25		3.612	2.365	
SD	133.395±	110.184±		166.522±	143.894±	
	3.774	3.724		4.324	3.105	
SS	149.491±	119.512±		171.553±	153.793±	
	4.365	5.603		5.512	3.605	

Πίνακας 10B. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) σε σπλήνα, πνεύμονα και καρδιά.

Κυτταρική Απόπτωση-Ένταση χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης κασπασών 3/8							ANOVA sig.
Πρωτεϊνική έκφραση: ισχυρή: 0-125, μέτρια: 126-169, ασθενής: 170-255 (μέσοι±τυπική απόκλιση)							
Ομάδες (N=10) Όργανα							
	Σπλήνας		Πνεύμονας		Καρδιά		p<0.001
	Caspase 3	Caspase 8	Caspase 3	Caspase 8	Caspase 3	Caspase 8	
Control	143.827± 2.35	136.67± 3.759	143.222± 4.508	130.562± 3.051	162.277± 4.763	149.565± 2.801	
Control SYM	168.86± 4.739	147.047± 3.856	167.352± 4.44	138.056± 3.067	173.701± 3.119	162.437± 3.718	
Sham	138.16± 2.614	128.841± 2.831	134.683± 3.219	120.659± 2.78	152.28± 4.237	129.406± 3.468	
SBS	123.7± 4.647	108.394± 4.428	108.047± 7.081	99.842± 3.185	136.373± 5.642	108.825± 7.008	
SSYM	133.993± 3.359	122.999± 4.007	129.321± 3.742	115.513± 2.673	147.58± 3.593	123.365± 3.284	
SD	138.113± 2.86	129.04± 3.103	144.752± 3.568	126.619± 3.885	155.818± 3.284	144.235± 3.36	
SS	167.772± 5.475	148.078± 10.822	163.579± 3.004	137.971± 5.423	169.915± 6.2	154.106± 3.316	

Πίνακας 10Γ. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni) της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) στο λεπτό έντερο.

Κυτταρική Απόπτωση-Ένταση χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης κασπασών 3/8 στο λεπτό έντερο (Sig.)							
Κασπάση 3							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.573	<0.001
Controlsym	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	1
Sham	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001
Sd	0.573	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001
Ss	<0.001	1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
Κασπάση 8							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		<0.001	0.065	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Controlsym	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	1
Sham	0.065	<0.001		<0.001	1	<0.001	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	1	<0.001		<0.001	<0.001
Sd	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001
Ss	<0.001	1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

Πίνακας 10Δ. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni) της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) στο ήπαρ.

Κυτταρική Απόπτωση-Ένταση χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης κασπασών 3/8 στο ήπαρ (Sig.)							
Κασπάση 3							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		0.217	0.871	<0.001	<0.001	1	0.137
Controlsym	0.217		<0.001	<0.001	<0.001	0.352	1
Sham	0.871	<0.001		<0.001	<0.001	0.562	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001
Sd	1	0.352	0.562	<0.001	<0.001		0.227
Ss	0.137	1	<0.001	<0.001	<0.001	0.227	
Κασπάση 8							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	1
Controlsym	0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sham	<0.001	<0.001		<0.001	0.039	1	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	0.039	<0.001		1	<0.001
Sd	<0.001	<0.001	1	<0.001	1		<0.001
Ss	1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

Πίνακας 10Ε. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni) της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) στο σπλήνα.

Κυτταρική Απόπτωση-Ένταση χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης κασπασών 3/8 στο σπλήνα (Sig.)							
Κασπάση 3							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		<0.001	0.038	<0.001	<0.001	0.035	<0.001
Controlsym	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	1
Sham	0.038	<0.001		<0.001	0.411	1	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	0.411	<0.001		0.439	<0.001
Sd	0.035	<0.001	1	<0.001	0.439		<0.001
Ss	<0.001	1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
Κασπάση 8							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		0.001	0.036	<0.001	<0.001	0.046	<0.001
Controlsym	0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	1
Sham	0.036	<0.001		<0.001	0.361	1	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	0.361	<0.001		0.292	<0.001
Sd	0.046	<0.001	1	<0.001	0.292		<0.001
Ss	<0.001	1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

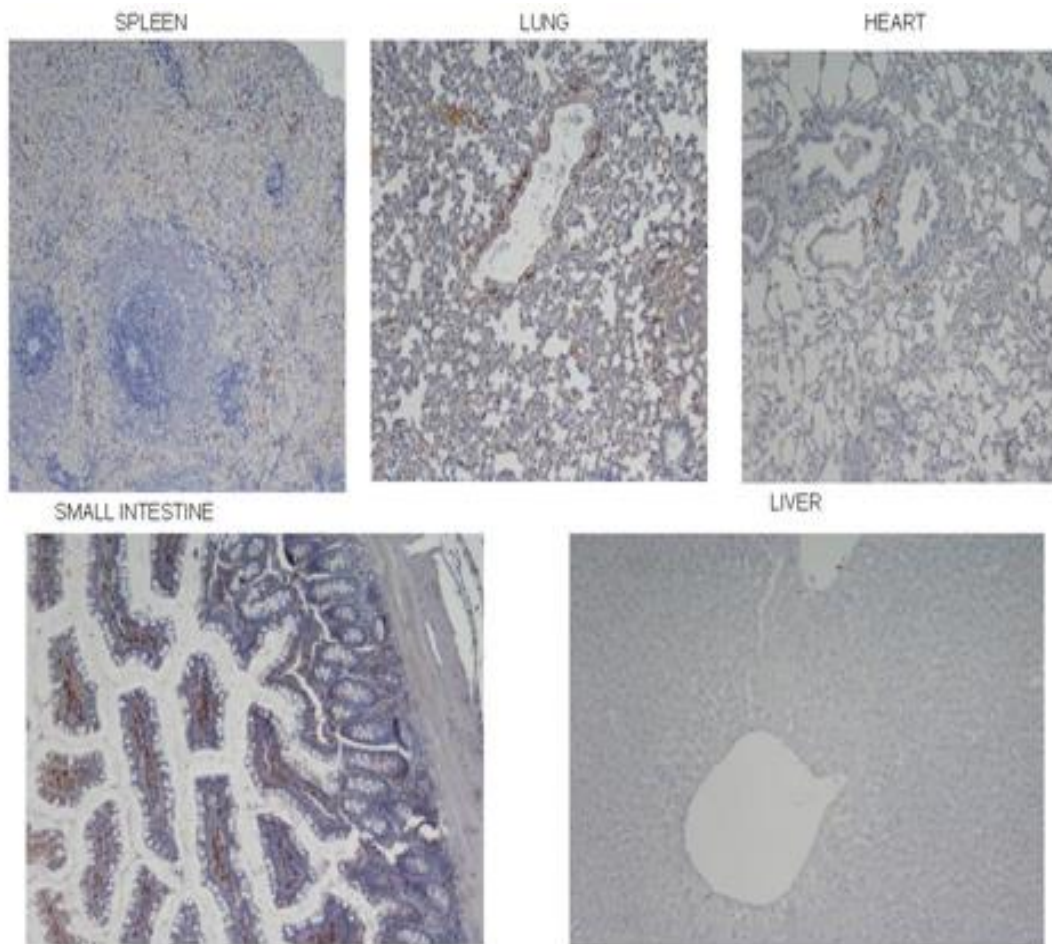
Πίνακας 10ΣΤ. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni) της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) στον πνεύμονα.

Κυτταρική Απόπτωση-Ένταση χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης κασπασών 3/8 στον πνεύμονα (Sig.)							
Κασπάση 3							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		<0.001	0.001	<0.001	<0.001	1	<0.001
Controlsym	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	1
Sham	0.001	<0.001		<0.001	0.178	<0.001	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	0.178	<0.001		<0.001	<0.001
Sd	1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001
Ss	<0.001	1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
Κασπάση 8							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.33	<0.001
Controlsym	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	1
Sham	<0.001	<0.001		<0.001	0.04	0.008	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	0.04	<0.001		<0.001	<0.001
Sd	0.33	<0.001	0.008	<0.001	<0.001		<0.001
Ss	<0.001	1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

Πίνακας 10Z. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni) της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) στην καρδιά.

Κυτταρική Απόπτωση-Ένταση χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης κασπασών 3/8 στην καρδιά (Sig.)							
Κασπάση 3							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.048	0.008
Controlsym	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	1
Sham	<0.001	<0.001		<0.001	0.503	1	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	0.503	<0.001		0.003	<0.001
Sd	0.048	<0.001	1	<0.001	0.003		<0.001
Ss	0.008	1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
Κασπάση 8							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.099	0.32
Controlsym	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sham	<0.001	<0.001		<0.001	0.032	<0.001	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	0.032	<0.001		<0.001	<0.001
Sd	0.099	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001
Ss	0.32	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

Εικόνα 7. Ανοσοϊστοχημική χρώση των προς επεξεργασία ιστών (λεπτό έντερο, ήπαρ, σπλήνας, πνεύμονας, καρδιά).



4.5. Συγκεντρώσεις του λιποπολυσακχαρίτη στον ορό αίματος

Οι συγκεντρώσεις του λιποπολυσακχαρίτη (LPS) στον ορό στις διάφορες ομάδες παρουσιάζονται στον *Πίνακα 11Α*. Τόσο στα δείγματα της κοιλιακής αορτής (ΚΑ) όσο και σε αυτά της πυλαίας φλέβας (ΠΦ), τα ζώα που δεν υπέστησαν τροφικό χειρισμό με συμβιοτικά παρουσίασαν υψηλότερες τιμές όχι μόνο σε αυτά που ευθανατώθηκαν στις 6 ώρες αλλά και σε αυτά που ευθανατώθηκαν στις 14 μέρες μετεγχειρητικά.

Ο έλεγχος κανονικότητας και ομοσκεδαστικότητας των δεδομένων δεν απέρριψε τη μηδενική υπόθεση ότι κατανέμονται κανονικά και για τις 7 ομάδες (Shapiro-Wilk Sig.>0.05, Kolmogorov-Smirnov Sig.>0.05), ενώ απορρίφθηκε η μηδενική υπόθεση της ισότητας των διακυμάνσεων (Levene test, Sig.<0.001).

Ο στατιστικός έλεγχος κατά Brown- Forsythe κατέδειξε ότι οι μέσες τιμές λιποπολυσακχαρίτη σε ΠΦ και ΚΑ σε κάθε ομάδα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά τουλάχιστον μεταξύ ενός ζεύγους των ομάδων (Asymp.sig<0.001< α =0.05) (*Πίνακας 11Α*).

Ο ανά ζεύγη post hoc έλεγχος (Dunnett's T3) κατέδειξε τα εξής αποτελέσματα στα ζεύγη ενδιαφέροντος: control (ΚΑ: 0.05±0, ΠΦ: 0.166±0.133 eu/ml) vs sham (ΚΑ: 0.263±0.211, ΠΦ: 0.786±0.516 eu/ml) $p>0.05$, sham vs SBS (ΚΑ: 1.372±0.236, ΠΦ: 3.831±1.544 eu/ml) $p<0.05$, SBS vs SSYM (ΚΑ: 0.737±0.25, ΠΦ: 1.67±0.322 eu/ml) $p<0.05$ και SD (ΚΑ: 3.828±1.213, ΠΦ: 18.551±4.515 eu/ml) vs SS (ΚΑ: 2.638±0.617, ΠΦ: 8.248±1.451 eu/ml) $p<0.05$ για την ΠΦ (*Πίνακας 11Β*). Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ όλων των ζευγών του αίματος από κοιλιακή αορτή εκτός από: Control, controlsym vs sham, control vs control sym και sd vs ss· αντίστοιχα στην πυλαία φλέβα: control vs control sym, sham.

Παρουσιάστηκε ισχυρή θετική γραμμική συσχέτιση (Pearson's 'r': 0.95, $p<0.001$) μεταξύ των επιπέδων LPS της κοιλιακής αορτής (abdominal aorta/AO) και της πυλαίας φλέβας (portal vein/PV) (*Γράφημα 5*).

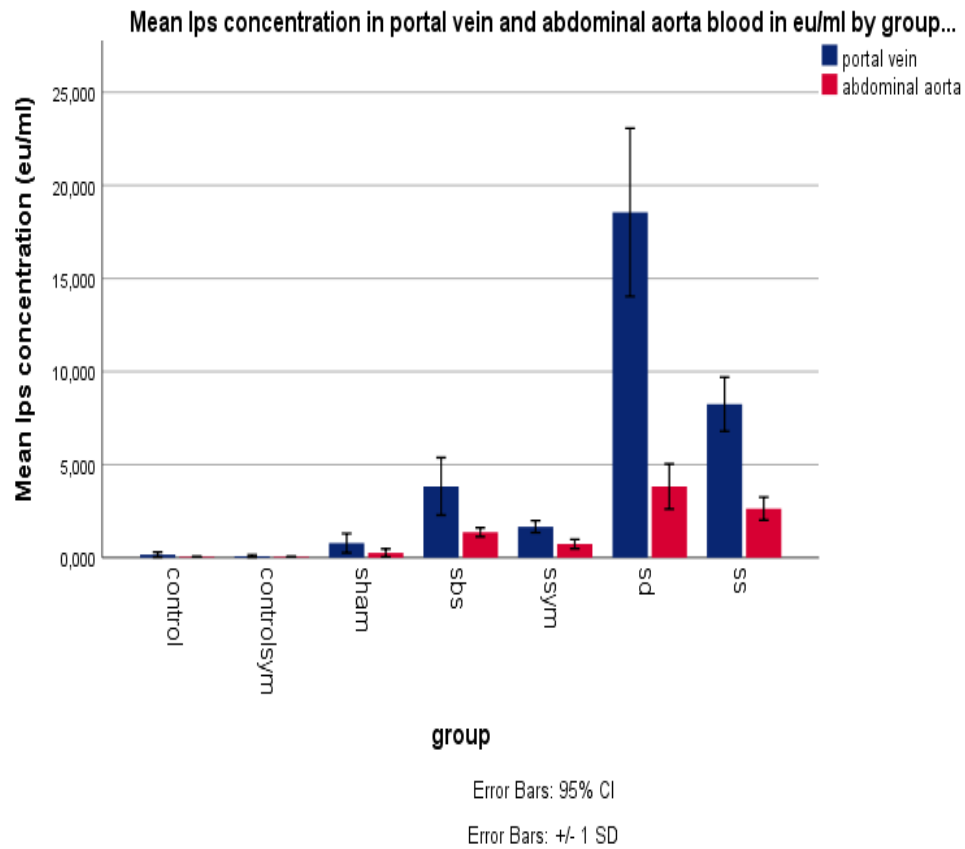
Πίνακας 11Α. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής των επιπέδων λιποπολυσακχαρίτη (LPS) ορού αίματος από πυλαία φλέβα και κοιλιακή αορτή (eu/ml) στις ομάδες πειραματισμού.

Συγκέντρωση LPS ορού αίματος (eu/ml)				
Ομάδες (n=10 ανά ομάδα)	Κοιλιακή αορτή (μέσοι±τυπική απόκλιση)	Brown- Forsythe Sig.	Πυλαία φλέβα (μέσοι±τυπική απόκλιση)	Brown- Forsythe Sig.
Control	0.05±0	<i>p<0.001</i>	0.166±0.133	<i>p<0.001</i>
Control SYM	0.05±0		0.091±0.062	
Sham	0.263±0.211		0.786±0.516	
SBS	1.372±0.236		3.831±1.544	
SSYM	0.737±0.25		1.67±0.322	
SD	3.828±1.213		18.551±4.515	
SS	2.638±0.617		8.248±1.451	

Πίνακας 11Β. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Dunnett's T3) της μέσης τιμής των επιπέδων λιποπολυσακχαρίτη (LPS) ορού αίματος από πυλαία φλέβα και κοιλιακή αορτή (eu/ml) στις ομάδες πειραματισμού.

Συγκέντρωση LPS ορού αίματος (eu/ml) (Sig.)							
ΚΟΙΛΙΑΚΗ ΑΟΡΤΗ							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		1	0.146	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Controlsym	1		0.146	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sham	0.146	0.146		<0.001	0.005	<0.001	<0.001
Sbs	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	0.002	0.001
Ssym	<0.001	<0.001	0.005	<0.001		<0.001	<0.001
Sd	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	<0.001		0.223
Ss	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.223	
ΠΥΛΑΙΑ ΦΛΕΒΑ							
	Control	Controlsym	Sham	Sbs	Ssym	Sd	Ss
Control		0.867	0.063	0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Controlsym	0.867		0.032	0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Sham	0.063	0.032		0.002	0.007	<0.001	<0.001
Sbs	0.001	0.001	0.002		0.025	<0.001	<0.001
Ssym	<0.001	<0.001	0.007	0.025		<0.001	<0.001
Sd	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		0.001
Ss	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	

Γράφημα 5. Μέση συγκέντρωση λιποπολυσακχαρίτη ορού στο κεντρικό (κοιλιακή αορτή –κόκκινο) και περιφερικό αίμα (πυλαία φλέβα- μπλε) ανά ομάδα πειραματισμού (τιμές σε eu/ml). **(Pearson's $r:0.95$, sig.<0.001).**



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5.1 Συζήτηση

Το σύνδρομο του βραχέος εντέρου χαρακτηρίζεται από την επακόλουθη διαταραχή της λειτουργίας του λεπτού εντέρου μετά από την απώλεια σημαντικού μήκους και απορροφητικής επιφάνειας (*DiBaise et al, 2004*). Το υπολειπόμενο έντερο είναι ανεπαρκές για την απορρόφηση των καθημερινά απαιτούμενων θρεπτικών συστατικών και την ομοιόσταση ενός φυσιολογικού θρεπτικού επιπέδου. Το γεγονός αυτό επηρεάζει αρκετές ανοσολογικές και μη διεργασίες, που είναι υπεύθυνες για τη διατήρηση της λειτουργίας του εντερικού φραγμού και την ακεραιότητα του γαστρεντερικού επιθηλίου. Μία αλληλουχία φαινομένων λαμβάνει χώρα αρχίζοντας με την άνοδο των προφλεγμονωδών κυτταροκινών ως απάντηση στη συστηματική φλεγμονώδη απόκριση στο χειρουργικό στρες και τη διασπορά των ενδοτοξινών (*Murakami et al, 2007*). Επιπρόσθετα, η βακτηριακή αλλόθεση και η απόπτωση είναι οι κύριοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που πυροδοτούνται σε αυτούς τους ασθενείς (*Eizaguirre et al, 2011*). Παρόλο που υπάρχουν περιορισμένες διαθέσιμες ενδείξεις για την απόπτωση των εντεροκυττάρων (*García-Urkia et al, 2008*), απουσιάζουν από τη βιβλιογραφία στοιχεία που να αφορούν στη διαταραχή της απόπτωσης κυττάρων άλλων οργάνων, κάτω από τη συστηματική επίδραση του ΣΒΕ. Με την παρούσα μελέτη καταφέραμε να προσδιορίσουμε ποσοτικά το φαινόμενο της απόπτωσης σε εντερικό και εξωεντερικό επίπεδο, σε συνάρτηση με την τοπική και συστηματική δράση των συμβιοτικών και την εμφάνιση της βακτηριακής αλλόθεσης σε ένα πειραματικό μοντέλο ΣΒΕ.

Παρά τη διαθεσιμότητα διαφόρων μέσων στην ιατρική φαρέτρα (ολική παρεντερική διατροφή, πρόοδος στη μεταμόσχευση οργάνων, νέα αντιβιοτικά,

καινοτόμες τεχνικές οργανικής υποστήριξης και ανάνηψης) η πρόγνωση των ασθενών που πάσχουν από ΣΒΕ παραμένει δυσοίωνη (*Misiakos et al, 2007*). Η σήψη είναι η κυριότερη αιτία θανάτου σε αυτούς τους ασθενείς και σχετίζεται με τους κεντρικούς φλεβικούς καθετήρες ή τη βακτηριακή αλλόθεση και βακτηριακή υπερανάπτυξη στον αυλό του εντέρου (*Quiro 's-Tejeira et al, 2004*). Η θετική δράση των προβιοτικών και των συμβιοτικών μετά από μαζική εντερεκτομή πρέπει να οφείλεται στον ανταγωνισμό τους με τα παθογόνα βακτήρια για την προσκόλληση στο επιθήλιο, την ενίσχυση των στενών συνδέσεων (tight junctions) μεταξύ των εντεροκυττάρων και στην ενίσχυση της επιθηλιακής ανοσιακής απόκρισης των παθογόνων (*Kanamori et al, 2004; Kanamori et al, 2001; Sentongo et al, 2008; Shiau et al, 2007; Candy et al, 2001; Ramakrishna, 2009*). Παρόλα αυτά, σπάνιες περιπτώσεις βακτηριαιμίας από λακτοβάκιλλους ή μυκηθαιμίας από σακχαρομύκητες έχουν αναφερθεί πρόσφατα σε ασθενείς με ΣΒΕ μετά τη χορήγηση προβιοτικών (*De Groote et al, 2005; Young RJ et al, 2004; Kunz et al, 2004; Uchida et al, 2004*). Στην περίπτωση μας κατ' ευχάριστο τρόπο δεν παρατηρήσαμε τις συγκεκριμένες παρενέργειες.

Αξιολογώντας αρχικά τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά των ζωικών προτύπων, είναι σημαντικό να τονίσουμε το ξεκάθαρο πλεονέκτημα εκείνων που έλαβαν συμβιοτικά. Σε αυτό το σημείο θα θέλαμε να αναλύσουμε το γεγονός ότι οι sham επίμυες δεν κατάφεραν τελικά να ανακτήσουνε την απώλεια βάρους που συντελέστηκε κατά τη διάρκεια του πειραματισμού. Θα μπορούσαμε να αποδώσουμε το γεγονός αυτό σε διάφορους λόγους. Κατά τη διάρκεια της νεκροτομής παρατηρήσαμε πρώτα απ' όλα, πως ενώ ήταν απόντα τα σοβαρά αποφρακτικά φαινόμενα, οι συμφύσεις που ήταν παρούσες στην περιτοναϊκή κοιλότητα και ειδικότερα στο χειρουργικό πεδίο οδήγησαν πιθανότατα σε καθυστερημένη εντερική διάβαση. Επιπρόσθετα, η επιρροή του χειρουργικού στρες οδήγησε σε μη

φυσιολογική διατροφική συμπεριφορά των ζώων κατά τη διάρκεια της πρώτης περιόδου. Συμπερασματικά, παρά τη ραγδαία αύξηση του σωματικού τους βάρους κατά τη διάρκεια της περιόδου των τελευταίων πέντε ημερών, δεν κατάφεραν τελικά να προσεγγίσουν το προεγχειρητικό τους βάρος. Μία πιο εκτενής παρατήρηση των ζωικών προτύπων, πέρα από τις 14 ημέρες, θα μπορούσε ίσως να οδηγήσει σε μία συμπεριφορά της μεταβολής του βάρους, περισσότερο ομοιάζουσα προς το φυσιολογικό.

Προχωρώντας στην ανάλυση των αποτελεσμάτων μας, προέκυψε πως η μαζική εντερεκτομή οδήγησε σε αύξηση της βακτηριακής αλλόθεσης από τον εντερικό αυλό προς τους μεσεντέριους λεμφαδένες, το σπλήνα, το ήπαρ και το περιφερικό αίμα. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός, ότι στη μελέτη μας παρατηρήθηκε βακτηριακή αλλόθεση στους μεσεντέριους λεμφαδένες και στο ήπαρ των sham αρουραίων σε ποσοστό 70% και 60% αντίστοιχα, παρά το μεσοδιάστημα πειραματισμού των δύο εβδομάδων μετά την εντεροδιατομή και την επακόλουθη περιτοναϊκή διασπορά βακτηρίων (*Eizaguirre et al, 2002*). Παρά την εφαρμογή άσηπτων συνθηκών οι control επίμυες εμφάνισαν επίσης βακτηριακή αλλόθεση στο 20% των περιπτώσεων. Η μαζική εντερεκτομή στη μελέτη μας οδήγησε σε σημαντική αύξηση της βακτηριακής αλλόθεσης και στους τέσσερεις ιστούς στόχους, σε σχέση με τους sham επίμυες. Η χορήγηση συμβιοτικών από την άλλη, ελάττωσε το συνολικό ποσοστό της βακτηριακής αλλόθεσης. Οι διαφοροποιήσεις που προκλήθηκαν από την παρουσία των συμβιοτικών αναλύθηκαν και μελετήθηκαν μέσα από τις ποιοτικές και ποσοτικές αλλαγές της εντερικής μικροχλωρίδας.

Επιπρόσθετα, σε ιστολογικό επίπεδο, παρατηρήθηκε μία ενδιαφέρουσα αλληλεπίδραση μεταξύ των συμβιοτικών και των ιστών, κατά της διάρκειας της πειραματικής αυτής πρόκλησης οργανικής βλάβης. Η βακτηριακή υπερανάπτυξη

στον εντερικό αυλό οδήγησε σε σημαντική τοπική ανοσιακή απόκριση, που εκφράστηκε με την αύξηση της λεμφοκυτταρικής διήθησης του εντερικού βλεννογόνου. Η μετάβαση του βακτηριακού φορτίου και ειδικά των κολοβακτηρίων μέσω του εντερικού φραγμού συνοδεύτηκε από αύξηση της συγκέντρωσης λιποπολυσακχαρίτη στη συστηματική κυκλοφορία και σε συνδυασμό με την αύξηση του αποπτωτικού δείκτη, κατέδειξε την ανάπτυξη σχετιζόμενης ηπατικής βλάβης (Aprahamian et al, 2007).

Η εντερεκτομή όπως αποδείχτηκε στην παρούσα μελέτη οδήγησε επίσης σε μία προφανή διέγερση της δομικής εντερικής προσαρμογής. Η αύξηση μετεγχειρητικά του ύψους των λαχνών υποστηρίζει αυτό το συμπέρασμα. Παρόλο που δεν κατέστη δυνατόν να αποκλείσουμε την επίδραση των αποφρακτικών φαινομένων στο σημείο της αναστόμωσης πάνω στις μορφολογικές αλλαγές της εγγύς νήστιδας, οι δομικές αλλαγές στον ειλέο μπορούν να θεωρηθούν ως άμεσος δείκτης μέτρησης της εντερικής προσαρμοστικής ανταπόκρισης (Mogilner et al, 2007). Ιστολογικά, η αύξηση του ύψους των λαχνών υποδηλώνει αύξηση του αριθμού των κυττάρων. Ομοίως, η απόπτωση στα υπολειπόμενα εντερικά τμήματα αυξήθηκε σημαντικά μετά την εντερεκτομή και μπορεί να θεωρηθεί ως ένας μηχανισμός που εξισορροπεί την αύξηση του εντεροκυτταρικού πολλαπλασιασμού, ως εκείνο το νέο ομοιοστατικό σημείο που προλαμβάνει την ογκογένεση κατά τη διάρκεια της εντερικής προσαρμογής (Eizaguirre et al, 2002). Η χορήγηση συμβιοτικών οδήγησε σε μία επιπρόσθετη θετική επίδραση στην εντερική αναδόμηση μετά τη μαζική εντερεκτομή. Τα ζωικά πρότυπα που έλαβαν συμβιοτικά μετά την εντερεκτομή, παρουσίασαν σημαντική αύξηση στο ύψος των λαχνών τους σε σχέση με τα εντεροεκτομηθέντα ζώα που έλαβαν φυσιολογική διαίτα. Είναι ενδιαφέρον ότι τα συμβιοτικά προκάλεσαν μείωση του εντεροκυτταρικού θανάτου μέσω της

απόπτωσης, γεγονός που μπορεί να ευθύνεται για την ήπια διεγερτική δράση των συμβιοτικών στην εντερική αναγέννηση. Η διαφοροποιημένη έκφραση της απόπτωσης μέσω του σύμπλοκου σηματοδοτικού μορίου των κασπασών 3 και 8 φαίνεται να είναι ομοίως ουσιαστική και για τα άλλα πλιν του εντέρου όργανα, αποδεικνύοντας το συστηματικό χαρακτήρα του συνδρόμου βραχέος εντέρου. Ιδιαίτερης αναφοράς χρήζει το γεγονός πως συμπαγή όργανα, όπως ο σπλήνας παρουσιάζουν μεγάλη αποπτωτική δράση σε σχέση με το λεπτό έντερο, επιβεβαιώνοντας τα βιβλιογραφικά δεδομένα (*Xiao et al, 2015*). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων για όλα τα όργανα εμφάνισαν στατιστική σημαντικότητα στις μεταξύ τους συγκρίσεις, αποδεικνύοντας ξανά την ήπια αντιαποπτωτική δράση των συμβιοτικών.

Η προεγχειρητική χορήγηση των συμβιοτικών στην τελευταία ομάδα (ss) κατέδειξε την προληπτική αθροιστική τους δράση, καθώς τα ζωικά πρότυπα παρουσίασαν βελτίωση σε όλους τους δείκτες ειδικά σε αυτούς που αφορούν στη βακτηριακή αλλόθεση, καθώς οι δομικές αλλαγές λαμβάνουν χώρα σε πιο προχωρημένα στάδια της νόσου.

Ιδιαίτερης σημασίας κρίνεται στην παρούσα να τονιστούν μερικές μελλοντικές προκλήσεις όσον αφορά τη χρήση των προβιοτικών ως διατροφικό συμπλήρωμα στο σύνδρομο του βραχέος εντέρου. Αυτές έγκεινται τόσο στη διενέργεια συγκριτικών μελετών σε σχέση με τα συμβιοτικά όσο και στη διερεύνηση της δράσης και του ρόλου τους, ως υπόβαθρο για την ευόδωση ή ανάδραση των κύριων θεραπευτικών παραγόντων του συνδρόμου (ολική παρεντερική διατροφή, λιπαρά οξέα μικράς αλύσου, λοιποί εντερικοί διατροφικοί παράγοντες, αντιβιοτικά κτλ) από την ταυτόχρονη ή μετάχρονη συγχορήγησή τους. Αξίζει να αναφερθούμε σε αυτό το σημείο σε μία πρόσφατη κλινική μελέτη από τους Zmora και συνεργάτες

(Zmora et al, 2018), όπου συγκρίνοντας μία ομάδα μαρτύρων ελεγχόμενων με εικονικό φάρμακο και μία με προβιοτικά, κατέληξαν στο αποτέλεσμα κατόπιν βιοψιών του γαστρεντερικού, πως υφίσταται αντοχή στα προβιοτικά σε ορισμένους οργανισμούς, εξαλείφοντας με αυτόν τον τρόπο την πιθανή ευεργετική τους επίδραση. Τόνισαν επιπρόσθετα δε, πως σε καμία περίπτωση τα αντίστοιχα αποτελέσματα προηγούμενων κλινικών και πειραματικών μελετών που στηρίζονταν μόνο σε δείγματα κοπράνων, δεν ήταν αντιπροσωπευτικά της εικόνας του γαστρεντερικού. Το βασικό τους συμπέρασμα ήταν πως η χορήγηση προβιοτικών πρέπει να γίνεται εξατομικευμένα και να μην ακολουθείται άκριτη καθολική χορήγηση.

Συναντήσαμε αρκετούς περιορισμούς κατά τη διάρκεια εκτέλεσης του πρωτοκόλλου μας στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο, που οφείλουμε να λάβουμε υπόψιν. Τα συμβιοτικά είναι ένα νέο σχετικά σύνθετο διατροφικό σκεύασμα και δεν υπάρχουν στοιχεία που να καταδεικνύουν το πλεονέκτημά τους σε σχέση με τα προβιοτικά σε αντίστοιχα πειραματικά μοντέλα συνδρόμου βραχέος εντέρου. Η προεγχειρητική χορήγηση συμβιοτικών για 7 μέρες σε υγιείς ενήλικες αρουραίους βασίστηκε σε παρατηρήσεις των ερευνητών. Μετά από αυτήν την περίοδο η μεταβολή των σωματομετρικών χαρακτηριστικών δεν ήταν σημαντική, ενώ δεν υπάρχει και βιβλιογραφική υποστήριξη στο συγκεκριμένο θέμα, καθώς τα λιγοστά κλινικά στοιχεία που υπάρχουν, αφορούν στην προεγχειρητική χορήγηση προβιοτικών μετά από τραύμα και εκλεκτικές επεμβάσεις στο γαστρεντερικό.

5.2. Συμπεράσματα

Με το πειραματικό αυτό μοντέλο βραχέος εντέρου καταφέραμε να επιβεβαιώσουμε την αρχική μας υπόθεση και να αποκαλύψουμε την ήπια

αντιαποπτωτική δράση τόσο στα εντεροκύτταρα όσο και σε κύτταρα άλλων οργάνων. Το φαινόμενο αυτό συνοδεύτηκε από επακόλουθη ελάττωση της βακτηριακής αλλόθεσης, της λεμφοκυτταρικής διήθησης του βλεννογόνου και των επιπέδων λιποπολυσακχαρίτη στον ορό, όπως επίσης και σε αύξηση της δομικής ανταπόκρισης.

Περαιτέρω έρευνα είναι επιβεβλημένη για να συσχετίσει τη σημαντικότητα των ευρημάτων αυτών στην πρόληψη της ανοσοπαράλυσης σε εντερεκτομηθέντες ασθενείς, καθώς τα αποτελέσματά μας όταν χορηγήσαμε τα συμβιοτικά προεγχειρητικά παρόλο που ήταν βελτιωμένα, δεν κατάφεραν να επιβεβαιώσουν την αρχική μας υπόθεση της πρόληψης.

Μία βαθύτερη διερεύνηση των παραγόντων αυτών που συμβάλλουν στη διατήρηση της ακεραιότητας του βλεννογόνου, στη μείωση του εντερικού βακτηριακού φορτίου και στη βελτίωση της επιβίωσης των ασθενών που πάσχουν από ΣΒΕ, θα καθιερώσει τη χρήση των συμβιοτικών και το ρόλο τους ως ένα επιπλέον θεραπευτικό μέσο κατά της πολύπλοκης αυτής νοσολογικής οντότητας. Φυσικά, εκτενέστερες και καλύτερα οργανωμένες τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες επιβάλλονται για την εξαγωγή πιο ασφαλών συμπερασμάτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

6.1. Αναγνώριση Προσφοράς

Η παρούσα μελέτη υποστηρίχθηκε από το Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών και χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου (70/4/8183).

6.2. Δήλωση Σύγκρουσης Συμφερόντων

Ο συγγραφέας δηλώνει ανεπιφύλακτα πως δεν υπάρχει καμία σύγκρουση συμφερόντων.

6.3. Συμμόρφωση με τους κανόνες Ηθικής και Δεοντολογίας

Υπήρξε απόλυτη συμμόρφωση με όλους τους τοπικούς (Διατάξεις ΠΔ 160/91 ΦΕΚ Α' 64 περί «προστασίας των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς, σε συμμόρφωση προς την Οδηγία 86/609/ΕΟΚ του Συμβουλίου») και διεθνείς (National Institutes of Health Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals) κανόνες για τη φροντίδα και χρήση των πειραματόζωων.

6.4. Συντμήσεις (αλφαβητικά)

ΑΙΧ: ΑνοσοΐστοΧημεία

ΒΑ: Βακτηριακή Αλλόθεση

ΕΤΒ: ΕίλεοΤυφλική Βαλβίδα

ΚΑ: Κοιλιακή Αορτή

ΛΠΣ: Λιποπολυσακχαρίτης

ΜΛΑ: Μεσεντέριοι Λεμφαδένες

ΝΕΚ: Νεκρωτική Εντεροκολίτιδα

ΟΠΑ: Ολική Παρεντερική Διατροφή

ΠΡΟ: Προβιοτικά

ΠΦ: Πυλαία Φλέβα

ΣΥΜ: Συμβιοτικά

ΣΒΕ: Σύνδρομο Βραχέος Εντέρου

ΨΑΕ: Ψηφιακή Ανάλυση Εικόνας

6.5. Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. Μόρια που ρυθμίζουν την εντερική προσαρμογή. Πειραματικές και κλινικές μελέτες που υποστηρίζουν την επάρκειά τους.

Πίνακας 2. Θεραπευτικός αλγόριθμος Συνδρόμου Βραχέος Εντέρου.

Πίνακας 3. Σύσταση του συμβιοτικού διατροφικού διαιτητικού συμπληρώματος.

Πίνακας 4. Πειραματικός σχεδιασμός.

Πίνακας 5Α. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής της μέσης ημερησίας ποσοστιαίας μεταβολής του σωματικού βάρους των επιμύων ανά ομάδα, στο τέλος του 15ήμερου πειραματισμού σε σχέση με την έναρξη.

Πίνακας 5Β. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Dunnett's T3) της μέσης τιμής της μέσης ημερησίας ποσοστιαίας μεταβολής του σωματικού βάρους των επιμύων ανά ομάδα, στο τέλος του 15ήμερου πειραματισμού σε σχέση με την έναρξη.

Πίνακας 6. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα συσχέτισης του ποσοστού βακτηριακής αλλόθεσης μικροοργανισμών στους ιστούς στις διάφορες ομάδες πειραματισμού.

Πίνακας 7Α. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής της ποσοτικής συγκέντρωσης καλλιέργειας μικροοργανισμών στους διάφορους ιστούς ($\log_{10}$ cfu/gr).

Πίνακας 7Β. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Dunnett's T3) της μέσης τιμής της ποσοτικής συγκέντρωσης καλλιέργειας μικροοργανισμών στους διάφορους ιστούς ($\log_{10}$ cfu/gr).

Πίνακας 8Α. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής του ύψους των λαχνών του λεπτού εντέρου (μm) στις ομάδες πειραματισμού.

Πίνακας 8Β. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Dunnett's T3) της μέσης τιμής του ύψους των λαχνών του λεπτού εντέρου (μm) στις ομάδες πειραματισμού.

Πίνακας 9. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα συσχέτισης του επιπέδου έντασης σήματος λεμφοκυτταρικής διήθησης του λεπτού εντέρου στις διάφορες ομάδες πειραματισμού.

Πίνακας 10Α. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) σε λεπτό έντερο και ήπαρ.

Πίνακας 10Β. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) σε σπλήνα, πνεύμονα και καρδιά.

Πίνακας 10Γ. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni) της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) στο λεπτό έντερο.

Πίνακας 10Δ. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni) της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) στο ήπαρ.

Πίνακας 10Ε. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni) της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) στο σπλήνα.

Πίνακας 10ΣΤ. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni) της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) στον πνεύμονα.

Πίνακας 10Ζ. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni) της μέσης τιμής των επιπέδων έντασης χρώσης της πρωτεϊνικής έκφρασης του μορίου κασπάση 3/8 (Κυτταρική απόπτωση) στην καρδιά.

Πίνακας 11Α. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα και αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης της μέσης τιμής των επιπέδων λιποπολυσακχαρίτη (LPS) ορού αίματος από πυλαία φλέβα και κοιλιακή αορτή (eu/ml) στις ομάδες πειραματισμού.

Πίνακας 11Β. Αποτελέσματα ελέγχου πολλαπλών συγκρίσεων (Dunnett's T3) της μέσης τιμής των επιπέδων λιποπολυσακχαρίτη (LPS) ορού αίματος από πυλαία φλέβα και κοιλιακή αορτή (eu/ml) στις ομάδες πειραματισμού.

6.6. Κατάλογος Γραφημάτων

Γράφημα 1. Μέσο ποσοστό βάρους σε σχέση με το αρχικό βάρος ανά ομάδα πειραματισμού στην πορεία του χρόνου (ημέρες).

Γράφημα 2. Ανάλυση επιβίωσης.

Γράφημα 3. Μέση τιμή ποσοτικής καλλιέργειας ιστού μεσεντέριων λεμφαδένων και ήπατος ανά ομάδα πειραματισμού ($\log_{10}$ cfu/gr).

Γράφημα 4. Μέση τιμή της έντασης της χρώσης του μορίου κασπασών 3/8 στους ιστούς ανά ομάδα.

Γράφημα 5. Μέση συγκέντρωση λιποπολυσακχαρίτη ορού στο κεντρικό (κοιλιακή αορτή) και περιφερικό αίμα (πυλαία φλέβα) ανά ομάδα πειραματισμού (τιμές σε eu/ml).

6.7. Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1. Τα εντερικά βακτήρια και οι επιδράσεις τους στη λειτουργία του φραγμού και στην ανταπόκριση των κυτταροκινών.

Εικόνα 2. Φιλοξενία ζωικών προτύπων σε κλωβούς από Plexiglas.

Εικόνα 3. Εγχειρητική διαδικασία πειραματισμού των ζωικών προτύπων.

Εικόνα 4. Διαδικασία και μέσα ευθανάτωσης ζωικών προτύπων - Συλλογή αίματος και ιστών προς επεξεργασία.

Εικόνα 5. Διαδικασία εντερικής προσαρμογής στο τέλος του πειραματισμού. Χρώση αιματοξυλίνης- εωσίνης.

Εικόνα 6. Μέτρηση του επιπέδου έντασης της χρώσης του μορίου κασπασών 3/8 (πρότυπο χρώσης ανοσοϊστοχημείας πυρήνα- κυτταροπλάσματος) με τη χρήση της Ψηφιακής Ανάλυσης Εικόνας.

Εικόνα 7. Ανοσοϊστοχημική χρώση των προς επεξεργασία ιστών (λεπτό έντερο, ήπαρ, σπλήνας, πνεύμονας, καρδιά).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή και Σκοπός: Πέρα από τις περιορισμένες πρόσφατες πληροφορίες σχετικά με τη δράση των συμβιοτικών σε εντεροκυτταρικό επίπεδο κατά τη διάρκεια του συνδρόμου βραχέος εντέρου, δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία σε συστηματικό, εξωεντερικό επίπεδο και ιδιαίτερα όσον αφορά στα φαινόμενα της απόπτωσης και της ενδοτοξιναιμίας από λιποπολυσακχαρίτη. Στη συγκεκριμένη καινοτόμο μελέτη ελέγξαμε την υπόθεση ότι τα συμβιοτικά είναι αποτελεσματικά ως προφυλακτικό ή θεραπευτικό μέσο χορηγούμενα προ- ή μετεγχειρητικά αντίστοιχα, μετά από υφολική εκτομή λεπτού εντέρου όχι μόνο τοποπεριοχικά αλλά και συστηματικά.

Υλικά και Μέθοδοι: Για τη μελέτη αυτή που διήρκησε 2 εβδομάδες χρησιμοποιήσαμε αρσενικούς επίμυες Wistar που χωρίστηκαν σε 7 πειραματικές ομάδες (n= 10/ ομάδα): ομάδα control (μη εγχειρισμένα/ κανονική διαίτα), ομάδα sham (εντεροδιατομή και επαναστόμωση/ κανονική διαίτα), 4 πειραματικές ομάδες (75% εντερεκτομή/ $\pm$ πρόσληψη συμβιοτικών με τη διαίτα προ- ή μετεγχειρητικά) και μία τελευταία ομάδα μη εγχειρισμένων ζώων που προσέλαβαν συμβιοτικά με τη διαίτα. Μετά το τέλος του πειραματισμού προσδιορίστηκαν οι εντερικές δομικές αλλαγές (ύψος λαχνών και βλεννογόνια λεμφοκυτταρική διήθηση), η απόπτωση σε εντερικά, ηπατικά, σπληνικά, πνευμονικά και καρδιακά κύτταρα, τα επίπεδα λιποπολυσακχαρίτη ορού (πυλαία φλέβα και κοιλιακή αορτή) και η βακτηριακή αλλόθεση gram αρνητικών βακτηρίων σε μεσεντέριους λεμφαδένες, ήπαρ, σπλήνα και περιφερικό αίμα.

Αποτελέσματα: Η χορήγηση συμβιοτικών οδήγησε σε αύξηση του ύψους των λαχνών (905.236 ± 54.892 vs 787.154 ± 17.523 μm , $p < 0.05$) και σε μείωση της βακτηριακής αλλόθεσης (80% vs 100%, $p > 0.05$), του αποπτωτικού δείκτη (110.188 ± 2.824 vs 99.302 ± 3.284 , $p < 0.05$), της λεμφοκυτταρικής επιθηλιακής

διήθησης (30% vs 50%, $p>0.05$) και των επιπέδων λιποπολυσακχαρίτη ορού (1.67 ± 0.322 vs 3.831 ± 1.544 eu/ml, $p<0.05$) των ζωικών προτύπων που υπέστησαν εντερεκτομή και έλαβαν συμβιοτικά σε σύγκριση με τα ζωικά πρότυπα που δεν έλαβαν συμβιοτικά.

Συμπεράσματα: Στο συγκεκριμένο ζωικό πρότυπο (επίμυες) τα συμβιοτικά ενισχύουν τον εντερικό φραγμό και προστατεύουν την κυτταρική δομή από τις τοπικές και συστηματικές επιδράσεις του συνδρόμου βραχέος εντέρου.

Λέξεις Κλειδιά: Συμβιοτικά, Εντερικός βλεννογόνος, Εντερικός φραγμός, Σύνδρομο βραχέος εντέρου, Ζωικό πρότυπο

SUMMARY

A Study of the Effect of Probiotics, Prebiotics and Symbiotics on Intestinal

Mucosa and Intestinal Mucosal Barrier during Short Bowel Syndrome in Rats

Background and Purpose: Beyond the limited recent information about the effect of symbiotics (SYMs) on enterocyte level during short bowel syndrome (SBS), there is no available evidence on systematic extra-intestinal level, especially concerning the phenomena of apoptosis and lipopolysaccharide (LPS) endotoxemia. With this novel study we tested the hypothesis that symbiotics are effective as preventive or therapeutic measure given pre- or postoperatively accordingly, after subtotal small bowel resection not only locoregionally but also systematically.

Materials and Methods: In this two- week study we used male Wistar rats that were divided into seven groups (n= 10/group): a control group (non operated/ fed regular diet), a sham group (bowel transection and re- anastomosis/ fed regular diet), four experimental groups (75% small bowel resection/ $\pm$ symbiotic intake pre- or post OP) and a final group of non- operated animals fed with SYMs enriched diet. Intestinal structural changes (villus height, lymphocyte mucosal infiltration), apoptosis (intestinal, liver, splenic, pulmonary and cardiac cells), LPS serum levels and bacterial translocation (BT) of gram negative intestinal bacteria to mesenteric lymph nodes, liver, spleen, and peripheral blood were determined.

Results: Treatment with SYMs in bowel resected subjects resulted in an increase in villus height (905.236 ± 54.892 vs 787.154 ± 17.523 μm , $p < 0.05$) and in a decrease in BT (80% vs 100%, $p > 0.05$), apoptotic index (110.188 ± 2.824 vs 99.302 ± 3.284 , $p < 0.05$), lymphocyte mucosal infiltration (30% vs 50%, $p > 0.05$) and LPS serum levels (1.67 ± 0.322 vs 3.831 ± 1.544 eu/ml, $p < 0.05$) compared with untreated animals.

Conclusions: In a rat model SYMs seem to enhance the intestinal barrier and protect the cellular structure from the local and systematic effects of SBS.

Keywords: Symbiotics; Intestinal mucosa; Intestinal barrier; Short bowel syndrome; Animal model

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alfaleh K, Anabrees J, et al. (2009) Probiotics reduce the risk of necrotizing enterocolitis in preterm infants: a meta-analysis. *Neonatology* 97, 93–99.
- Allard JP, Jeejeebhoy KN. (1989) Nutrition support and therapy in the short bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North Am* 18,589–601.
- Ammon HV, Phillips SF. (1973) Inhibition of colonic water and electrolyte absorption by fatty acids in man. *Gastroenterology* 65,744–749.
- Aprahamian CJ, Chen M, et al. (2007) Two-hit rat model of short bowel syndrome and sepsis: independent of total parenteral nutrition, short bowel syndrome is proinflammatory and injurious to the liver. *J Pediatr Surg* 42,992-7.
- Atalay F, Ozcay N, et al. (2003) Evaluation of the outcomes of short bowel syndrome and indications for intestinal transplantation. *Transplant Proc* 35, 3054–3056.
- Avery ME, Snyder JD. (1990) Oral therapy for acute diarrhea. The underused simple solution. *N Engl J Med* 323,891–894.
- Baillon ML, Marshall-Jones ZV, et al. (2004) Effects of probiotic *Lactobacillus acidophilus* strain DSM13241 in healthy adult dogs. *Am J Vet Res* 65, 338–343.
- Benyacoub J, Czarnecki-Maulden GL, et al. (2003) Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune functions in young dogs. *J Nutr* 133, 1158–1162.
- Booth CC, Alldis D, et al. (1961) Studies on the site of fat absorption: 2. Fat balances after resection of varying amounts of the small intestine in man. *Gut* 2,168–174.

- Booth CC, Mollin DL. (1959) The site of absorption of vitamin B12 in man. Lancet 1,18–21.
- Borgstrom B, Dahlqvist A, et al. (1957) Studies of intestinal digestion and absorption in the human. JCI 36,1521–1536.
- Bowen JM, Stringer AM, et al. (2007) VSL#3 probiotic treatment reduces chemotherapy-induced diarrhea and weight loss. Cancer Biol Ther 6, 1449–1454.
- Briones ER, Iber FL. (1995) Liver and biliary tract changes associated with total parenteral nutrition: pathogenesis and prevention. J Am Coll Nutr 14,219–228.
- Bruewer M, Luegering A, et al. (2003) Proinflammatory cytokines disrupt epithelial barrier function by apoptosis-independent mechanisms. J Immunol 171, 6164–6172.
- Bryant J. (1924) Observations upon the growth and length of the human intestine. Am J Med Sci 167,499–520.
- Buchman AL. (2001) Complications of long-term home total parenteral nutrition: their identification, prevention and treatment. Dig Dis Sci 46,1–18.
- Buchman AL, Dubin MD, et al. (1992) Lecithin supplementation causes a decrease in hepatic steatosis in patients receiving long term parenteral nutrition. Gastroenterology 102,1363–1370.
- Buchman AL, Scolapio J, et al. (2003) AGA technical review on short bowel syndrome and intestinal transplantation. Gastroenterology 124,1111–1134.
- Buchman AL, Sohel M, et al. (2001) Choline deficiency causes reversible hepatic abnormalities in patients during parenteral nutrition: proof of a human choline requirement; a placebo controlled trial. J Parenter Enter Nutr 25,260–268.

- Burke JF, Wolfe RR, et al. (1979) Glucose requirements following burn injury. *Ann Surg* 190,274–285.
- Byrne MF, Murray FE. (2001) Gallstones. In: *Intestinal Failure*. Nightingale JMD, ed. Greenwich Medical Media Limited,213–226.
- Byrne TA, Morrissey TB, et al. (1995) Growth hormone, glutamine and a modified diet enhance nutrient absorption in patients with severe short bowel syndrome. *J Parent Enter Nutr* 19,296–302.
- Byrne TA, Wilmore DW, et al. (2005) Growth hormone, glutamine, and an optimal diet reduces parenteral nutrition in patients with short bowel syndrome. *Ann Surg* 242,655–661.
- Caballero-Franco C, Keller K, et al. (2007) The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 292, 315–322.
- Candy DC, Densham L, et al. (2001) Effect of administration of *Lactobacillus casei shirota* on sodium balance in an infant with short bowel syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 32,506-8.
- Carbonnel F, Cosnes J, et al. (1996) The role of anatomic factors in nutritional autonomy after extensive small bowel resection. *J Parenter Enteral Nutr* 20,275–280.
- Cario E, Gerken G, et al. (2007) Toll-like receptor 2 controls mucosal inflammation by regulating epithelial barrier function. *Gastroenterology* 132, 1359–1374.
- Cassaccia G, Trucchi A, et al. (2006) Congenital intestinal anomalies, neonatal short bowel syndrome, and prenatal counseling. *J Pediatr Surg* 41, 804–807.

- Chaet MS, Arya G, et al. (1994) Epidermal growth factor enhances intestinal adaptation after massive small bowel resection. *J Pediatr Surg* 29,1035–1038.
- Cisler JJ, Buchman AL. (2005) Intestinal adaptation in short bowel syndrome. *J Invest Med* 53,402–413.
- Clarke RM. (1970) Mucosal architecture and epithelial cell production rate in the small intestine of the albino rat. *J Anat* 107,519–529.
- Clayburgh DR, Shen L, et al. (2004) A porous defense: the leaky epithelial barrier in intestinal disease. *Lab Invest* 84, 282–291.
- Collantes Perez J, Prada Oliveira JA, et al. (2004) A useful experimental model of short bowel syndrome. *J Invest Surg* 17,9–14.
- Conly JM, Stein K, et al. (1994) The contribution of vitamin K2 (menaquinones) produced by the intestinal microflora to human nutritional requirements for vitamin K. *Am J Gastroenterol* 89,915–923.
- Cooper JC, Williams NS, et al. (1986) Effects of a long acting somatostatin analogue in patients with severe ileostomy diarrhea. *Br J Surg* 73,128–131.
- Cosnes J, Evard D, et al. (1992) Improvement in protein absorption with a small peptide-base diet in patients with jejunostomy. *Nutrition* 8,406–411.
- Cosnes J, Gendre JP, et al. (1985) Compensatory enteral hyperalimentation for management of patients with severe short bowel syndrome. *Am J Clin Nutr* 41,1002–1009.
- Crenn P, Coudray-Loucas C, et al. (2000) Postabsorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans. *Gastroenterology* 119,1496–1505.
- Czernichow B, Nsi-Emvo E, et al. (1997) Enteral supplementation with ornithine α -ketoglutarate improves the early adaptive response to resection. *Gut* 40,67–72.

- Dabney A, Thompson J, et al. (2004) Short bowel syndrome after trauma. *Am J Surg* 188,792–795.
- Darmaun D, Messing B, et al. (1991) Glutamine metabolism after small intestinal resection in humans. *Metabolism* 40,42–44.
- De Groote MA, Frank DN, et al. (2005) *Lactobacillus rhamnosus* GG bacteremia associated with probiotics use in a child with short gut syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 24, 278–280.
- Denburg J, Bensen W, et al. (1977) Megaloblastic anemia in patients receiving total parenteral nutrition without folic acid or vitamin B12 supplementation. *Can Med Assoc J* 117,144–146.
- De Roos N, Katan M. (2000) Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *Am J Clin Nutr* 71, 405–411.
- De Vrese M. (2003) Effects of probiotic bacteria on gastrointestinal symptoms, *Helicobacter pylori* activity and antibiotics- induced diarrhea. *Gastroenterology* 124, A560.
- Dharmathophorn K, Gorelick FS, et al. (1982) Somatostatin decreases diarrhoea in patients with the short bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol* 4,521–524.
- Diamanti A, Basso MS, et al. (2008) Irreversible intestinal failure: prevalence and prognostic factors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 47, 450–457.
- Diamanti A, Basso MS, et al. (2007) Prevalence of life-threatening complications in pediatric patients affected by intestinal failure. *Transplant Proc* 39, 1632–1633.
- DiBaise JK, Young RJ, et al. (2004) Intestinal rehabilitation and the short bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 99, 1386–1395.

- Doldi SB. (1991) Intestinal adaptation following jejuno-ileal bypass. Clin Nutr 10,138–145.
- Dowling RH, Booth CC. (1966) Functional compensation after small bowel resection in man. Lancet 2,146–147.
- Dudrick SJ, Wilmore DW, et al. (1968) Long-term parenteral nutrition with growth, development and positive nitrogen balance. Surgery 64,134–142.
- Duro D, Kamin D, et al. (2008) Overview of pediatric short bowel syndrome. J Pediatr Gastroenterol Nutr 47, 33–36.
- Earnest DL, Johnson G, et al. (1974) Hyperoxaluria in patients with ileal resection; an abnormality in dietary oxalate absorption. Gastroenterology 66,1114–1122.
- Edes TE, Walk BE, et al. (1991) Essential fatty acid sufficiency does not preclude fat soluble-vitamin deficiency in short-bowel syndrome. Am J Clin Nutr 53,499–502.
- Efsen E, Jeppesen PB (2011). Modern treatment of adult short bowel syndrome patients. Minerva Gastroenterol Dietol 57,405-17.
- Eizaguirre I, Aldazabal P, et al. (2011) Escherichia coli translocation in experimental short bowel syndrome: probiotic supplementation and detection by polymerase chain reaction. Pediatr Surg Int 27,1301-5.
- Eizaguirre I, García Urkia N, et al. (2010) Adaptation in the small intestine: Effect of minimal enteral nutrition and probiotics on proliferation and apoptosis in the intestinal wall. Cir Pediatr 23,118-21.
- Eizaguirre I, Urkia NG, et al. (2002) Probiotic supplementation reduces the risk of bacterial translocation in experimental short bowel syndrome. J Pediatr Surg 37, 699–702.

- Ewaschuk J, Endersby R, et al. (2007) Probiotic bacteria prevent hepatic damage and maintain colonic barrier function in a mouse model of sepsis. *Hepatology* 46, 841–850.
- Falcone RA, Stern LE, et al. (2000) Intestinal adaptation occurs independent of transforming growth factor-alpha. *J Pediatr Surg* 35,365–370.
- Fanucci A, Cerro P, et al. (1984) Small-bowel length measured by radiology. *Gastrointestinal Radiol* 9,349–351.
- Folkman J. (2007) Is angiogenesis an organizing principle in biology and medicine? *J Pediatr Surg* 42, 1–11.
- Fordtran JS, Locklear TW. (1966) Ionic constituents and osmolality of gastric and small intestinal fluids after eating. *Am J Dig Dis* 11,503–521.
- Freshwater DA, Saadeddin A, et al. (2005) Can home parenteral nutrition be provided by non-specialised centers? 2300 weeks of experience at a district general hospital in the United Kingdom. *Clin Nutr* 24:229–235.
- Freund HR, Beglaibter N. (2004) Total parenteral nutrition, intestinal adaptation, and short bowel syndrome. *Nutrition* 20, 337.
- Fukushima Y, Kawata Y, et al. (1998) Effect of a probiotics formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children. *Int J Food Microbiol* 30, 39–44.
- Galland RB, Spencer J. (1987) Natural history and surgical management of radiation enteritis. *Br J Surg* 74,742–747.
- García-Urkia N, Aldazabal P, et al. (2008) Short bowel syndrome in the research setting: 15 years' experience. *Cir Pediatr* 21,55-61.

- Garcia-Urkia N, Asensio AB, et al. (2002) Beneficial effects of *Bifidobacterium lactis* in the prevention of bacterial translocation in experimental short bowel syndrome (article in Spanish). *Cir Pediatr* 15, 162–165.
- Gatt M, Reddy BS, et al. (2007) Review Article: bacterial translocation in the critically ill – evidence and methods of prevention. *Aliment Pharmacol Ther* 25, 741–757.
- Gebbers JO, Laissue JA (2004). Bacterial translocation in the normal human appendix parallels the development of the local immune system. *Ann N Y Acad Sci* 1029,337-43.
- Gibson GR, Probert HM, et al. (2004) Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev* 17, 259–275.
- Goday PS. (2009) Short bowel syndrome: how short is too short? *Clin Perinatol* 36, 101–110.
- Gonzalez HF, Perez NB, et al. (2003) Nutrition and immunological status in long-term follow up of children with short bowel syndrome. *J Parenter Enter Nutr* 29, 186–191.
- Goulet O, Baglin-Gobet S, et al. (2005) Outcome and long term growth after extensive small bowel resection in the neonatal period: a survey of 87 children. *Eur J Pediatr Surg* 15, 95–101.
- Goulet O, Ruemmele F. (2006) Causes and management of intestinal failure in children. *Gastroenterology* 130, 16–28.
- Gracy M. (1979) The contaminated short bowel syndrome: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Am J Clin Nutr* 32,234–243.
- Gratz SW, Mykkanen H, et al. (2010) Probiotics and gut health: a special focus on liver diseases. *World J Gastroenterol* 16, 403–410.

- Green H, Morikawa M, et al. (1985) A dual effector theory of growth hormone action. *Differentiation* 29,195–198.
- Guarner F, Malagelada JR. (2003) Gut flora in health and disease. *Lancet* 361, 512–519.
- Hanson WR, Osborne JW, et al. (1977) Compensation by the residual intestine after intestinal resection in the rat. I. Influence of amount of tissue removed. *Gastroenterology* 73,692–700.
- Haymond HE. (1935) Massive resection of the small intestine. *Surg Gynecol Obstetr* 61,693–705.
- Helmarth MA, Erwin CR, et al. (1998) Enterocyte apoptosis is increased following small bowel resection. *J Gastrointest Surg* 2,44–49.
- Herbert MK, Holzer P. (2008) Standardized concept for the treatment of gastrointestinal dysmotility in critically ill patients – current status and future options. *Clin Nutr* 27, 25–41.
- Howard JC, Reid G, et al. (2004) Probiotics in surgical wound infections: current status. *Clin Invest Med* 27, 274–281.
- Howard L, Ament M, et al. (1995) Current use and clinical outcome of home parenteral and enteral nutrition therapies in the United States. *Gastroenterology* 109,355–365.
- Howard L, Ovesen L, et al. (1982) Reversible neurological symptoms caused by vitamin E deficiency in a patient with short bowel syndrome. *Am J Clin Nutr* 36,1243–1249.
- Jain PK, McNaught CE, et al. (2004) Influence of symbiotic containing *Lactobacillus acidophilus* La5, *Bifidobacterium lactis* Bb 12, *Streptococcus thermophilus*,

- Lactobacillus bulgaricus and oligofructose on gut barrier function and sepsis in critically ill patients: a randomised controlled trial. Clin Nutr 23, 467–475.
- Jeejeebhoy KN. (2002) Short bowel syndrome: a nutritional and medical approach. Can Med Assoc J 166,1297–1302.
- Jeppesen PB, Hartmann B, et al. (2001) Glucagon-like peptide 2 improves nutrient absorption and nutritional status in short-bowel patients with no colon. Gastroenterology 120,806–815.
- Jeppesen PB, Mortensen PB. (1998) The influence of a preserved colon on the absorption of medium chain fat in patients with small bowel resection. Gut 43,478–483.
- Jeppesen PB, Sanguinetti EL, et al. (2005) Teduglutide (ALX-0600), a dipeptidyl peptidase IV resistant glucagon-like peptide 2 analogue, improves intestinal function in short bowel syndrome patients. Gut 54,1224–1231.
- Jeppesen PB, Staun M, et al. (1998) Effect of intravenous ranitidine and omeprazole on intestinal absorption of water, sodium, and macronutrients in patients with intestinal resection. Gut 43,763–769.
- Jianfeng G, Weiming Z, et al. (2005) Serum citrulline is a simple quantitative marker for small intestinal enterocytes mass and absorption function in short bowel patients. J Surg Res 127,177–182.
- Johansson C. (1975) Studies of gastrointestinal interactions. VII. Characteristics of the absorption pattern of sugar, fat and protein from composite meals in man. A quantitative study. Scand J Gastroenterol 10,33–42.
- Johnson WF, Dipalma CR, et al. (2000) Keratinocyte growth factor enhances early gut adaptation in a rat model of short bowel syndrome. Vet Surg 29,17–27.

- Juno RJ, Knott AW, et al. (2004) Preventing enterocyte apoptosis after massive small bowel resection does not enhance adaptation of the intestinal mucosa. *J Pediatr Surg* 39, 907–911.
- Kanamori Y, Hashizume K, et al. (2001) Combination therapy with *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei*, and galactooligosaccharides dramatically improved the intestinal function in a girl with short bowel syndrome: a novel synbiotics therapy for intestinal failure. *Dig Dis Sci* 46, 2010–2016.
- Kanamori Y, Sugiyama M, et al. (2004) Experience of long-term synbiotic therapy in seven short bowel patients with refractory enterocolitis. *J Pediatr Surg* 39, 1686–1692.
- Katoh K. (1995) Effects of short-chain fatty acids on exocrine and endocrine pancreatic secretion. In *Physiological and Clinical Aspects of Short-Chain Fatty Acids*, pp. 222–242 [J Cummings, J Rombeau and T Sakata, editors]. Cambridge: Cambridge University Press.
- Keller J, Panter H, et al. (2004) Management of the short bowel syndrome after extensive small bowel resection. *B Pract Res Clin Gastroenterol* 18, 977–992.
- Kelly DA. (1998) Liver complications of pediatric parenteral nutrition epidemiology. *Nutrition* 14, 153–157.
- Kimoto H, Mizumachi K, et al. (2004) New *Lactococcus* strain with immunomodulatory activity: enhancement of Th1-type immune response. *Microbiol Immunol* 48, 75–82.
- Knapp HR, Melly MA. (1986) Bactericidal effects of polyunsaturated fatty acids. *J Infect Dis* 154, 84–94.

- Koeberle E. (1881) Resection de deux metres d'intestine grele guerison. Bull Acad Med 8, 249–250.
- Kolida S, Gibson GR .(2011) Synbiotics in health and disease. Annu Rev Food Sci Technol 2,373-93.
- Kunz AN, Noel JM, et al. (2004) Two cases of Lactobacillus bacteremia during probiotic treatment of short gut syndrome. J Pediatr Gastroenterol Nutr 38, 457–458.
- Lee KD, Yamataka A, et al. (2006) Basic fibroblast growth factor and granulocyte colony-stimulating factor enhance mucosal surface expansion after adult small bowel transplantation without vascular reconstruction in rats. J Pediatr Surg 41, 737–741.
- Leman M, de Motigny S, et al. (1993) Effect of octreotide on water and electrolytes losses, nutrient absorption and transit in short bowel syndrome. Eur J Gastroenterol Hepatol 5,817–822.
- Lennard-Jones JE. (1990) Indications and need for long-term parenteral nutrition: implications for intestinal transplantation. Transplant Proc 22,2427–2429.
- Levine GM, Deren JJ, et al. (1974) Role of oral intake and maintenance of gut mass and disaccharidase activity. Gastroenterology 67,975–982.
- Levy E, Frileux P, et al. (1988) Continuous enteral nutrition during the early adaptive stage of the short bowel syndrome. Br J Surg 75,549–553.
- Ling PR, Sheikh M, et al. (2001) Cholecystokinin (CCK) secretion in patients with severe short bowel syndrome (SSBS). Dig Dis Sci 46,859–864.
- Macfarlane S, Macfarlane GT, et al. (2006) Review article: prebiotics in the gastrointestinal tract. Aliment Pharmacol Ther 24, 701–714.

- Mach T. (2006) Clinical usefulness of probiotics in inflammatory bowel diseases. *J Physiol Pharmacol* 57, 23–33.
- Madsen K, Cornish A, et al. (2001) Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology* 121, 580–591.
- Marteau P, Messing B, et al. (1997) Do patients with short-bowel syndrome need a lactose-free diet? *Nutrition* 13,13–16.
- Martin CA, Perrone EE, et al. (2009) Intestinal resection induces angiogenesis within adapting intestinal villi. *J Pediatr Surg* 44, 1077–1083.
- Matsuzaki T, Chin J. (2000) Modulating immune responses with probiotic bacteria. *Immunol Cell Biol* 78, 67–73.
- Mayne AJ, Handy DJ, et al. (1990) Dietary management of d-lactic acidosis in short bowel syndrome. *Arch Dis Child* 65,229–231.
- McIntyre PB, Fitchew M, et al. (1986) Patients with a high jejunostomy do not need a special diet. *Gastroenterology* 91,25–33.
- McNaught CE, Woodcock NP, et al. (2005) A prospective randomised trial of probiotics in critically ill patients. *Clin Nutr* 24, 211–219.
- McNaught CE, Woodcock NP, et al. (2002) A prospective randomised study of the probiotic *Lactobacillus plantarum* 299 V on indices of gut barrier function in elective surgical patients. *Gut* 51, 827–831.
- Messing B, Crenn P, et al. (1999) Long-term survival and parenteral nutrition dependence in adult patients with short bowel syndrome. *Gastroenterology* 117,1043–1050.
- Messing B, Lemann M, et al. (1995) Prognosis of patients with nonmalignant chronic intestinal failure receiving long-term home parenteral nutrition. *Gastroenterology* 108,1005–1010.

- Misiakos EP, Agrogiannis G, et al. (2013) Expression of tissue IGF 1, TGFbeta and EGFR in the sequential steps of intestinal adaptation in a rat model of short bowel syndrome. *Acta Chir Belg* 113,129-38.
- Misiakos EP, Kato T, et al. (2000) Small bowel transplantation. In: Tejani AH, Harmon WE, Fine RN, Eds. *Pediatric Solid Organ Transplantation*. Munksgaard: Copenhagen, 445–460.
- Misiakos EP, Macheras A, et al. (2007) Short bowel syndrome: current medical and surgical trends. *J Clin Gastroenterol* 41,5-18.
- Mock DM, DeLorimer AA, et al. (1981) Biotin deficiency; an unusual complication of parenteral alimentation. *N Engl J Med* 304,820–824.
- Mogilner JG, Srugo I, et al. (2007) Effect of probiotics on intestinal regrowth and bacterial translocation after massive small bowel resection in a rat. *J Pediatr Surg* 42, 1365–1371.
- Mohamadzadeh M, Olson S, et al. (2005) Lactobacilli activate human dendritic cells that skew T-cells toward T helper 1 polarization. *Proc Natl AcadSci U S A* 102, 2880–2885.
- Mokete B, De Cock R. (1998) Xerophthalmia and short bowel syndrome (letter). *Br J Gastroenterol* 82,1340–1341.
- Murakami M, Sato N, et al. (2007) Changes in lymphocyte phenotypes and cytokine production by surgical stress in a rat small intestinal resection model. *J Clin Biochem Nutr* 40, 216–220.
- Nagao F, Nakayama M, et al. (2000) Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on the immune system in healthy human subjects. *Biosci Biotechnol Biochem* 64, 2706–2708.
- Nightingale J. (1999) Short bowel, short answer? *Gut* 45,478–479.

- Nightingale JM. (2003) Hepatobiliary, renal and bone complications of intestinal failure. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 17, 907–929.
- Nightingale JMD. (1999) Management of patients with a short bowel. *Nutrition* 15,633–637.
- Nightingale JMD. (2001) Management of patients with a short bowel. *World J Gastroenterol* 7,741–751.
- Nightingale JMD. (2003) The medical management of intestinal failure: methods to reduce the severity. *Proc Nutr Soc* 62,703–710.
- Nightingale JM, Bartram CI, et al. (1991) Length of residual small bowel after partial resection: correlation between radiographic and surgical measurements. *Gastrointestinal Radiol* 16,305–306.
- Nightingale JM, Kamm MA, et al. (1993) Disturbed gastric emptying in the short bowel syndrome. Evidence of a “colonic brake”. *Gut* 34,1171–1176.
- Nightingale JM, Kamm MA, et al. (1996) Gastrointestinal hormones in short bowel syndrome. Peptide YY may be the “colonic brake” to gastric emptying. *Gut* 39,267–272.
- Nightingale JM, Lennard-Jones JE, et al. (1992) Colonic preservation reduces need for parenteral therapy, increases incidence of renal stones, but does not change high prevalence of gallstones in patients with a short bowel. *Gut* 33,1493–1497.
- Nightingale JM, Lennard-Jones JE, et al. (1990) Jejunal efflux in short bowel syndrome. *Lancet* 336,765–768.
- Nightingale JM, Lennard-Jones JE, et al. (1992) Oral salt supplements to compensate for jejunostomy losses: comparison of sodium chloride capsules, glucose electrolyte solution and glucose polymer electrolyte solution. *Gut* 33,759–761.

- Nightingdale JM, Walker ER, et al. (1991) Effect of omeprazole on intestinal output in the short bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 5,405–412.
- Nightingale JM, Walker ER, et al. (1990) Short bowel syndrome. *Digestion* 45 (Suppl. I),77–83.
- O'Brien DP, Nelson LA, et al. (2002) Intestinal permeability and bacterial translocation are uncoupled after small bowel resection. *J Pediatr Surg* 37, 390–394.
- O'Keefe SJ, Buchman AL, et al. (2006) Short bowel syndrome and intestinal failure: consensus definitions and overview. *Clin Gastroenterol Hepatol* 4, 6–10.
- O'Keefe SJ, Peterson ME, et al. (1994) Octreotide as an adjunct to home parenteral nutrition in the management of end jejunostomy syndrome. *J Parent Enter Nutr* 18,26–34.
- Oley Foundation. (1994) North American home parenteral and enteral nutrition patient registry annual report.
- Osman N, Adawi D, et al. (2007) Endotoxin- and D-galactosamine-induced liver injury improved by the administration of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and blueberry. *Dig Liv Dis* 39, 849–856.
- Parekh N, Seidner D, et al. (2005) Managing short bowel syndrome; making the most of what the patient still has. *Cleve Clin J Med* 72,833–838.
- Parvadia JK, Keswani SG, et al. (2007) Role of VEGF in small bowel adaptation after resection: the adaptive response is angiogenesis dependent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293, 591–598.
- Peuranen S, Tiihonen K, et al. (2004) Combination of polydextrose and lactitol affects microbial ecosystem and immune responses in rat gastrointestinal tract. *Br J Nutr* 91, 905–914.

- Pitt HA, King W, et al. (1983) Increased risk of cholelithiasis with prolonged parenteral nutrition. *Am J Surg* 145,106–112.
- Platell CFE, Coster J, et al. (2002) The management of patients with the short bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 8,13–20.
- Pochard P, Gosset P, et al. (2002) Lactic acid bacteria inhibit TH2 cytokine production by mononuclear cells from allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 110, 617–623.
- Qin HL, Shen TY, et al. (2005) Effect of *Lactobacillus* on the gut microflora and barrier function of the rats with abdominal infection. *World J Gastroenterol* 11, 2591–2596.
- Quigley EMM, Quera R. (2006) Small intestinal bacterial overgrowth: roles of antibiotics, prebiotics, and probiotics. *Gastroenterology* 130, 78–90.
- Quiro's-Tejeira RE, Ament ME, et al. (2004) Longterm parenteral nutritional support and intestinal adaptation in children with short bowel syndrome: a 25-year experience. *J Pediatr* 145, 157–163.
- Ramakrishna BS. (2009) Probiotic-induced changes in the intestinal epithelium: implications in gastrointestinal disease. *Trop Gastroenterol* 30,76-85.
- Resta-Lenert S, Barrett KE. (2003) Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC). *Gut* 52, 988–997.
- Resta-Lenert S, Barrett K. (2009) Modulation of intestinal barrier properties by probiotics: role in reversing colitis. *Ann N Y Acad Sci* 1165, 175–182.
- Rodrigues CA, Lennard-Jones JE, et al. (1989) The effects of octreotide, soy polysaccharide, codeine and loperamide on nutrient, fluid and electrolyte absorption in the short-bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 3,159–169.

- Roller M, Pietro Femia A, et al. (2004) Intestinal immunity of rats with colon cancer is modulated by oligofructose-enriched inulin combined with *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis*. *Br J Nutr* 92, 931–938.
- Sakata T. (1987) Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors. *Br J Nutr* 58, 96–103.
- Schiano TD, Klang MG, et al. (1996) Thiamine status in patients receiving long-term home parenteral nutrition. *Am J Gastroenterol* 91,2555–2559.
- Schlee M, Harder J, et al. (2008) Probiotic lactobacilli and VSL#3 induce enterocyte b-defensin 2. *Clin Exp Immunol* 151, 528–535.
- Schrezenmeir J, De Vrese M. (2001) Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 73, 361–364.
- Scolapio JS. (2004) Current update of short-bowel syndrome. *Curr Opin Gastroenterol* 20,143–145.
- Scolapio JS. (1999) Effect of growth hormone, glutamine, and diet on body composition in short-bowel syndrome: a randomized controlled study. *J Parent Enter Nutr* 23,309–312.
- Scolapio JS, Camilleri M, et al. (1997) Effect of growth hormone, glutamine, and diet on adaptation in short-bowel syndrome: a randomized controlled study. *Gastroenterology* 113,1074–1081.
- Seguy D, Vahedi K, et al. (2003) Low dose GH in adult home parenteral nutrition-dependent short bowel syndrome patients: a positive study. *Gastroenterology* 124,293–302.

- Selby PL, Peacock M, et al. (1984) Hypomagnesemia after small bowel resection: treatment with 1 alpha-hydroxylated vitamin D metabolites. *Br J Surg* 71,334–337.
- Sentongo TA, Cohran V, et al. (2008) Intestinal permeability and effects of *Lactobacillus rhamnosus* therapy in children with short bowel syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 46, 41–47.
- Shaffer JL, O’Hanrahan T, et al. (1988) Does somatostatin analogue, SMS (201-995) reduce high output stoma effluent? A controlled trial. *Gut* 29,1432–1433.
- Shanahan F. (2002) The host–microbe interface within the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 16, 915–931.
- Shanbhogue LKR, Molenaar JC. (1994) Short bowel syndrome: metabolic and surgical management. *Br J Surg* 81,486–499.
- Shiau SL, Su BH, et al. (2007) Possible effect of probiotics and breast milk in short bowel syndrome: report of one case. *Acta Paediatr Taiwan* 48:89-92.
- Shulman DI, Hu CS, et al. (1992) Effects of short-term growth hormone therapy in rats undergoing 75% small intestinal resection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 14,3–11.
- Sigalet DL. (2001) Short bowel syndrome in infants and children: an overview. *Semin Pediatr Surg* 10, 49–55.
- Slater G, Aufses AH Jr. (1991) Small-bowel length in Crohn’s disease. *Am J Gastroenterol* 8,1037–1040.
- Snydman DR. (2008) The safety of probiotics. *Clin Infect Dis* 46, 104–111, discussion 144–151.
- Spencer AU, Neaga A, et al. (2005) Pediatric short bowel syndrome: redefining predictors of success. *Ann Surg* 242, 403–408.

- Spiller RC, Brown ML, et al. (1986) Decreased fluid tolerance, accelerated transit, and abnormal motility of the human colon induced by oleic acid. *Gastroenterology* 91,100–107.
- Spindler-Vesel A, Bengmark S, et al. (2007) Synbiotics, prebiotics, glutamine, or peptide in early enteral nutrition: a randomized study in trauma patients. *J Parenter Enteral Nutr* 31, 119–126.
- Stanko RT, Nathan G, et al. (1987) Development of hepatic cholestasis and fibrosis in patients with massive loss of intestine supported by prolonged parenteral nutrition. *Gastroenterology* 92,197–202.
- Stephen AM, Haddad AC, et al. (1983) Passage of carbohydrate into the colon. Direct measurements in humans. *Gastroenterology* 85,589–595.
- Stoidis CN, Misiakos EP, et al. (2011) Potential benefits of pro- and prebiotics on intestinal mucosal immunity and intestinal barrier in short bowel syndrome. *Nutr Res Rev* 24,21-30.
- Sukhotnik I, Coran AG, et al. (2005) Advances in short bowel syndrome: an updated review. *Pediatr Surg Int* 21, 947–953.
- Sukhotnik I, Mor-Vaknin N, et al. (2004) Effect of dietary fat on early morphological intestinal adaptation in a rat with short bowel syndrome. *Pediatr Surg Int* 20,419–424.
- Sukhotnik I, Shiloni E, et al. (2003) Low-fat diet impairs postresection intestinal adaptation in a rat model of short bowel syndrome. *J Pediatr Surg* 38,1182–1187.
- Sukhotnik I, Sruago I, et al. (2008) Effect of lactulose on bacterial translocation and intestinal adaptation in a rat model of short bowel syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 46,507-13.

- Sukhotnik I, Yakirevich E, et al. (2002) Effect of transforming growth factor- α on intestinal adaptation in a rat model of short bowel syndrome. *J Surg Res* 108,235–242.
- Szkudlarek J, Jeppesen PB, et al. (2000) Effect of high dose growth hormone with glutamine and no change in diet on intestinal absorption in short bowel patients: a randomised, double blind, crossover, placebo controlled study. *Gut* 47,199–205.
- Tappenden KA, Deutsch AS. (2007) The physiological relevance of the intestinal microbiota – contributions to human health. *J Am Coll Nutr* 26, 679–683.
- Taweechoatipatr M, Iyer C, et al. (2009) *Lactobacillus saerimneri* and *Lactobacillus ruminis*: novel human-derived probiotic strains with immunomodulatory activities. *FEMS Microbiol Lett* 293, 65–72.
- Thompson JS. (2000) Inflammatory disease and outcome of short bowel syndrome. *Am J Surg* 180,551–555.
- Thompson JS, Iyer KR, et al. (2003) Short bowel syndrome. *J Gastrointest Surg* 7,1069–1072.
- Thompson WG, Wrathell E. (1977) The relation between ileal resection and vitamin B12 absorption. *Can J Surg* 20,461–464.
- Tian J, Hao L, et al. (2009) Dietary glutamine and oral antibiotics each improve indexes of gut barrier function in rat short bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 296,348-55.
- Tolga Muftuoglu MA, Civak T, et al. (2011) Effects of probiotics on experimental short-bowel syndrome. *Am J Surg* 202,461-8.
- Uchida H, Yamamoto H, et al. (2004) D-lactic acidosis in short-bowel syndrome managed with antibiotics and probiotics. *J Pediatr Surg* 39,634-6.

- Uchida K, Takahashi T, et al. (2007) Immunonutritional effects during synbiotics therapy in pediatric patients with short bowel syndrome. *Pediatr Surg Int* 23, 243–248.
- Vanderhoof JA, Langnas AN. (1997) Short-bowel syndrome in children and adults. *Gastroenterology* 113,1767–1778.
- Van der Hulst RR, van Kreel BK, et al. (1993) Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet* 341,1363–1365.
- Versalovic J. (2007) Probiotics: intestinal gatekeeping, immunomodulation, and hepatic injury. *Hepatology* 46, 618-21.
- Warner BW. (2001) GLP-2 as therapy for the short-bowel syndrome. *Gastroenterology* 120,1041–1048.
- Weiming ZHU, Ning L, et al. (2002) Rehabilitation therapy for short bowel syndrome. *Chin Med J* 115,776–778.
- Wessel JJ, Kocoshis SA (2007) Nutritional management of infants with short bowel syndrome. *Semin Perinatol* 31, 104–111.
- Westergaard H, Spady DK. (1993) Short bowel syndrome. In: SleisengerMH, Fordtran JS, eds. *Gastrointestinal disease*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Co,1249–1257.
- Williams NS, Evans P, et al. (1985) Gastric acid secretion and gastric production in the short bowel syndrome. *Gut* 26,914–919.
- Wilmore DW. (1972) Factors correlating with a successful outcome following extensive intestinal resection in newborn infants. *J Pediatr* 80,88–95.
- Wilmore DW, Byrne TA, et al. (1997) Short bowel syndrome: new therapeutic approaches. *Curr Probl Surg* 34,389–444.

- Wilmore DW, Dudrick SJ. (1968) Growth and development of an infant receiving all nutrients exclusively by vein. *J Am Med Assoc* 203,860–864.
- Wilmore DW, Lacey JM, et al. (1997) Factors predicting a successful outcome after pharmacologic bowel compensation. *Ann Surg* 226,288–292.
- Wilmore DW, Robinson MK. (2000) Short bowel syndrome. *World J Surg* 24,1486–1492.
- Windsor CWO, Fejfar J, et al. (1969) Gastric secretion after massive small bowel resection. *Gut* 10,779–786.
- Woolf GM, Miller C, et al. (1987) Nutritional absorption in short bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 32,8–15.
- Wu J, Tang Q, et al. (2007) Nutrition assessment in children with short bowel syndrome weaned off parenteral nutrition: a long-term follow-up study. *J Pediatr Surg* 42, 1372–1376.
- Xiao K, Zou WH, et al. (2015) The role of visfatin on the regulation of inflammation and apoptosis in the spleen of LPS-treated rats. *Cell Tissue Res* 359, 605-618.
- Yan F, Polk DB. (2002) Probiotic bacterium prevents cytokine- induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *J Biol Chem* 277, 50959–50965.
- Young RJ, Vanderhoof JA. (2004) Two cases of *Lactobacillus* bacteremia during probiotic treatment of short gut syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 39,436-7.
- Zareie M, Johnson-Henry K, et al. (2006) Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut* 55, 1553–1560.

- Ziegler TR, Mantell MP, et al. (1996) Gut adaptation and the insulin-like growth factor system: regulation by glutamine and IGF-I administration. *Am J Physiol* 271,866–875.
- Ziegler TR, Mantell MP, et al. (1998) Intestinal adaptation after extensive small bowel resection: differential change in growth and insulin- like growth factor system messenger ribonucleic acids in jejunum and ileum. *Endocrinology* 139,3119–3126.
- Zmora N, Zilberman-Schapira G, et al. (2018) Personalized Gut Mucosal Colonization Resistance to Empiric Probiotics Is Associated with Unique Host and Microbiome Features. *Cell* 174,1388-1405.
- Zyrek AA, Cichon C, et al. (2007) Molecular mechanisms underlying the probiotic effects of *Escherichia coli* Nissle 1917 involve ZO-2 and PKC ζ redistribution resulting in tight junction and epithelial barrier repair. *Cell Microbiol* 9, 804–816.