



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Β' ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
Διευθυντής: Καθηγητής Γρ. Κουράκλης

---

## ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Η ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ  
ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ, ΤΟΥ  
ΕΝΔΟΓΕΝΟΥΣ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ (NO), ΤΗΣ  
ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ-6 ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΤΟΥ  
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS ΣΤΙΣ ΒΛΑΒΕΣ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ  
– ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ (ΙΕ) ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ ΜΕ ΗΠΑΤΙΚΗ  
ΣΤΕΑΤΩΣΗ

---

ΣΙΚΑΛΙΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ  
ΙΑΤΡΟΣ- ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2017



## **ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Η ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ, ΤΟΥ ΕΝΔΟΓΕΝΟΥΣ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ (NO), ΤΗΣ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ-6 ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΤΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS ΣΤΙΣ ΒΛΑΒΕΣ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ – ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ (ΙΕ) ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ ΜΕ ΗΠΑΤΙΚΗ ΣΤΕΑΤΩΣΗ**

**ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΣΙΚΑΛΙΑΣ**

### **ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

- **ΓΡΗΓΟΡΙΟΣ ΚΟΥΡΑΚΛΗΣ**, Καθηγητής Χειρουργικής ΕΚΠΑ

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- **ΚΟΥΡΑΚΛΗΣ ΓΡΗΓΟΡΙΟΣ**, Καθηγητής Χειρουργικής ΕΚΠΑ
- **ΚΑΡΑΤΖΑΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής ΕΚΠΑ
- **ΜΑΝΤΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής ΕΚΠΑ

### **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- **ΚΟΥΡΑΚΛΗΣ ΓΡΗΓΟΡΙΟΣ**, Καθηγητής Χειρουργικής ΕΚΠΑ
- **ΘΕΟΧΑΡΗΣ ΣΤΑΜΑΤΙΟΣ**, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής ΕΚΠΑ
- **ΦΕΛΕΚΟΥΡΑΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ**, Καθηγητής Χειρουργικής ΕΚΠΑ
- **ΚΑΡΑΤΖΑΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής ΕΚΠΑ
- **ΜΑΝΤΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής ΕΚΠΑ
- **ΑΝΤΩΝΙΟΥ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής ΕΚΠΑ
- **ΜΙΣΙΑΚΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής ΕΚΠΑ

**ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 22/12/2017**



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

σελίδα

---

Περίληψη	I
Abstract	II
Πίνακας ορολογίας	III
Πίνακας συντμήσεων	V
Ευρετήριο Πινάκων, Εικόνων, Σχημάτων	VII
Πρόλογος	XIII

## A.ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

---

### 1. ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΗΠΑΤΟΣ

1.1 Εισαγωγή	3
1.2 Εμβρυολογία	3
1.3 Ιστολογία	4
1.4 Ανατομία	9
1.4.1 Γενικά χαρακτηριστικά	9
1.4.2 Ηπατικοί λοβοί και σύνδεσμοι	11
1.4.3 Ηπατική αγγείωση	12
1.4.4 Λεμφαγγεία ήπατος	14
1.4.5 Χολικά αγγεία ήπατος	14
1.4.6 Νεύρωση του ήπατος	15
1.5 Φυσιολογία	15

### 2. ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ ΣΤΟ ΗΠΑΡ ΚΑΙ ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΑΠΟ ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ

2.1 Εισαγωγή	19
2.2 Ισχαιμική Βλάβη	21
2.3 Βλάβες από επαναιμάτωση	25

<b>2.4 Είδη κυτταρικού θανάτου μετά από βλάβες ισχαιμίας-επαναιμάτωσης</b>	<b>34</b>
2.4.1 Απόπτωση	35
2.4.2 Νέκρωση	37
2.4.3 Νεκρόπτωση	37
2.4.4 Πυρόπτωση	38
2.4.5 Αυτοφαγικός θάνατος	38
<b>2.5 Χειρισμός Ισχαιμικής προετοιμασίας ως προφύλαξη από τη βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης</b>	<b>38</b>
<b>3. <u>ΛΙΠΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ (ΗΠΑΤΙΚΗ ΣΤΕΑΤΩΣΗ)</u></b>	
<b>3.1 Εισαγωγή</b>	<b>45</b>
<b>3.2 Επιδημιολογικά δεδομένα</b>	<b>46</b>
<b>3.3 Παράγοντες Κινδύνου</b>	<b>46</b>
<b>3.4 Παθογένεση της Ηπατικής Στεάτωσης</b>	<b>47</b>
<b>3.5 Ιστολογική Ταξινόμηση</b>	<b>50</b>
<b>3.6 Ηπατεκτομή σε ήπαρ με στεάτωση</b>	<b>54</b>
<b>3.7 Βλάβες από ισχαιμία επαναιμάτωση στο ήπαρ με στεάτωση</b>	<b>55</b>
<b>3.8 Ισχαιμική προετοιμασία σε ήπαρ με στεάτωση</b>	<b>56</b>
<b>4. <u>ΑΞΙΟΛΟΓΟΥΜΕΝΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ</u></b>	
<b>4.1 Βιοχημικοί Δείκτες (AST, ALT, ALP και γGT)</b>	<b>58</b>
<b>4.2 Ανοσιακοί Δείκτες (Κυτταροκίνες TNFα και IL6)</b>	<b>60</b>
<b>4.3 Γαλακτικό οξύ</b>	<b>61</b>
<b>4.4 Μονοξειδίο του Αζώτου</b>	<b>62</b>
<b>4.5 Γλουταθειόνη</b>	<b>64</b>
<b>4.6 Λοιποί μελετώμενοι Δείκτες (Χοληστερόλη, Τριγλυκερίδια, Ολικά Λιπίδια)</b>	<b>65</b>

## 5. ΕΠΙΛΟΓΗ ΖΩΙΚΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ

<b>5.1 Πειραματικά Μοντέλα Ηπατικής Στεάτωσης</b>	67
5.1.1 Γενετικά Τροποποιημένα Μοντέλα	68
5.1.2 Μοντέλα στεάτωσης με δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε λιπίδια	70
5.1.3 Δίαιτες ελεύθερες χολίνης και χολίνης –μεθειονίνης	72
<b>5.2 Βασική ανατομική του ήπατος στους επίμυες</b>	73
<b>5.3 Χειρισμοί Βλάβης Ισχαιμίας-Επαναιμάτωσης και Ισχαιμικής Προετοιμασίας σε επίμυες</b>	77

## B.ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

---

1. <u>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</u>	83
2. <u>ΣΚΟΠΟΣ</u>	85
3. <u>ΥΛΙΚΟ– ΜΕΘΟΔΟΣ</u>	87
3.1 Ζωικά πρότυπα	87
3.2 Σχεδιασμός πειράματος	87
3.3 Μέθοδος Ηπατικής Στεάτωσης	90
3.4 Βασικοί πειραματικοί χειρισμοί	91
3.4.1 Ομάδες ζωικών προτύπων	91
3.4.2 Βασικοί χειρουργικοί πειραματικοί χειρισμοί	93
3.5 Δείκτες Μελέτης	96
3.6 Ιστολογική εξέταση των παρασκευασμάτων	97
3.7 Στατιστική ανάλυση	97
4. <u>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</u>	98
4.1 Τεκμηρίωση της Ηπατικής Στεάτωσης και της επίδρασή της στην ηπατική λειτουργία σε σχέση με το φυσιολογικό ήπαρ	100
4.2 Αποτελέσματα Ιστοπαθολογικών ευρημάτων	101

<b>4.3 Μελέτη των μεταβολών των παραμέτρων</b>	107
4.3.1 Αποτελέσματα των Μεταβολών της <b>Ιντερλευκίνης 6</b> στον ηπατικό ιστό	107
4.3.2 Αποτελέσματα των Μεταβολών της <b>Ιντερλευκίνης 6</b> στο αίμα	109
4.3.3 Αποτελέσματα των Μεταβολών του <b>TNFα</b> στον ηπατικό ιστό	111
4.3.4 Αποτελέσματα των Μεταβολών του <b>TNFα</b> στο αίμα	113
4.3.5 Αποτελέσματα των Μεταβολών του <b>NO</b> στον ηπατικό ιστό	115
4.3.6 Αποτελέσματα των Μεταβολών του <b>NO</b> στο αίμα	118
4.3.7 Αποτελέσματα των Μεταβολών του <b>Γαλακτικού οξέος</b> στον ηπατικό ιστό	120
4.3.8 Αποτελέσματα των Μεταβολών του <b>Γαλακτικού οξέος</b> στο αίμα	122
4.3.9 Αποτελέσματα των Μεταβολών της <b>Γλουταθειόνης</b> στον ηπατικό ιστό	124
4.3.10 Αποτελέσματα των Μεταβολών της <b>Γλουταθειόνης</b> στο αίμα	126
4.3.11 Αποτελέσματα μεταβολών Βασικών Βιοχημικών Παραμέτρων στο αίμα ( <b>AST, ALT, γGT, ALP, Τριγλυκεριδίων, Χοληστερόλης και Ολικών Λιπιδίων</b> )	128
<b>4.4 Ταξινόμηση των αποτελεσμάτων βάσει των πειραματικών χειρισμών</b>	137
4.4.1 Η επίδρασή της Ηπατικής Στεάτωσης στην ηπατική λειτουργία σε σχέση με το φυσιολογικό ήπαρ μετά από χειρισμό ελέγχου ( <b>SHAM Operation</b> )	137
4.4.2 Η επίδραση του χειρισμού της 30 λεπτής ισχαιμίας-επαναιμάτωσης ( <b>IRI</b> ) στην εκτεταμένη ηπατεκτομή σε φυσιολογικούς επίμυες και επίμυες με ηπατική στεάτωση	139
4.4.3 Η επίδραση του τριπλού χειρισμού <b>IPC 24</b> ώρες πριν την πρόκληση ηπατικής βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης	



<i>(IRI) και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής σε επίμυες με ηπατική στεάτωση και σε φυσιολογικούς επίμυες.</i>	150
<b>4.5 Επιβίωση</b>	161
<b>5. <u>ΣΥΖΗΤΗΣΗ</u></b>	163
<b>5.1 Μελέτη της επίδρασης των χειρουργικών χειρισμών σε σχέση με τα αποτελέσματα των μελετώμενων παραμέτρων (IL6, TNFα, NO, GSH και Γαλακτικού οξέος) στον Ηπατικό Ιστό και το Αίμα</b>	163
<b>5.2 Συσχέτιση των μελετώμενων παραμέτρων με την επιβίωση και τις ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις</b>	168
<b>5.3 Συσχέτιση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα</b>	170
<b>5.4 Απάντηση των ερευνητικών ερωτημάτων</b>	179
<b>5.5 Περιορισμοί της παρούσας μελέτης</b>	179
<b>6. <u>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</u></b>	180
<b>Βιβλιογραφικές Αναφορές</b>	181
<b>Δημοσίευση</b>	208
<b>Υποτροφία</b>	209



## Περίληψη

**Σκοπός:** η ηπατική στεάτωση αποτελεί ανεξάρτητο επιβαρυντικό παράγοντα για την ηπατική χειρουργική, προκαλώντας σοβαρή ηπατική βλάβη μέσω του μηχανισμού της ισχαιμίας - επαναιμάτωσης. Σκοπός μας είναι να εξετάσουμε την επίδραση του χειρισμού της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας στην παρατεταμένη ηπατική ισχαιμία και την εκτεταμένη ηπατεκτομή σε ήπαρ με ηπατική στεάτωση.

**Υλικό/Μέθοδος:** με Επίμυες Wistar δημιουργήθηκε μοντέλο ηπατικής στεάτωσης με διατροφή ελεύθερη χολίνης. Πραγματοποιήθηκε χειρισμός 30λεπτης ισχαιμίας για την επαγωγή βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, πριν την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, σε επίμυες με ηπατική στεάτωση και φυσιολογικούς. Επίσης, πραγματοποιήθηκε τριπλός προφυλακτικός χειρισμός ισχαιμικής προσαρμογής, 24 ώρες πριν την επαγωγή της βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και την διενέργεια της εκτεταμένης ηπατεκτομής, τόσο σε επίμυες με ηπατική στεάτωση όσο και σε φυσιολογικούς. Σε κάθε ομάδα μετά από 6 ώρες και 24 ώρες επαναιμάτωσης, μετρήθηκαν οι IL6, TNFα, ενδογενές NO, γλουταθειόνη και γαλακτικό οξύ στον ηπατικό ιστό και στο αίμα, καθώς και η ασπάρτική αμινοτρανσφεράση (AST), η αλανινική αμινοτρανσφεράση (ALT), η αλκαλική φωσφατάση (ALP), η γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση (γGT), τα τριγλυκερίδια, η χοληστερόλη και τα ολικά λιπίδια στο αίμα.

**Αποτελέσματα:** οι ομάδες που υποβλήθηκαν σε χειρισμό πρόκλησης βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης και σε εκτεταμένη ηπατεκτομή, παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές για τον TNFα και το γαλακτικό οξύ, τις χαμηλότερες τιμές για την IL6, το NO και τη γλουταθειόνη, και εμφάνισαν μεγαλύτερη έκταση νέκρωσης, ισχαιμίας και φλεγμονής του ηπατικού παρεγχύματος, ενώ η ομάδα με τους επίμυες με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκε σε χειρισμό πρόκλησης βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και στη διενέργεια ηπατεκτομής παρουσίασε τη χειρότερη επιβίωση (μέγιστη επιβίωση:29 ώρες). Αντίθετα, οι ομάδες τόσο των επίμυων με ηπατική στεάτωση όσο και των φυσιολογικών, που υποβλήθηκαν στον προφυλακτικό χειρισμό της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας εμφάνισαν σημαντική αύξηση των επιπέδων των IL6, NO και οριακά της γλουταθειόνης, ενώ μείωσαν δραστικά τα επίπεδα των TNFα και γαλακτικού οξέος. Τελικό αποτέλεσμα ήταν, η μικρότερης έκτασης παρεγχυματικές αλλοιώσεις (νέκρωση, ισχαιμία και φλεγμονή) που επιβεβαιώθηκαν από τα μειωμένα επίπεδα των ALT, AST, ALP και γGT και συνοδεύονταν από αύξηση της επιβίωσης των επίμυων με ηπατική στεάτωση (επιβίωση 30 ημερών:67%) αλλά και των φυσιολογικών (επιβίωση 30 ημερών:83.3%), που υποβλήθηκαν σε ισχαιμική προσαρμοστικότητα πριν από την παρατεταμένη ισχαιμία-επαναιμάτωση και την εκτεταμένη ηπατεκτομή.

**Συμπεράσματα:** τα συγκεκριμένα αποτελέσματα καταδεικνύουν το πιθανό θετικό ρόλο που διαδραματίζει ο χειρισμός της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας στην βελτίωση των αποτελεσμάτων και της επιβίωσης μετά από παρατεταμένη ηπατική ισχαιμία, επαναιμάτωση και εκτεταμένη ηπατεκτομή, σε επίμυες με ηπατική στεάτωση.

**Λέξεις κλειδιά:** ισχαιμική προσαρμοστικότητα/προετοιμασία, λιπώδης ηπατική διήθηση, ηπατική στεάτωση, λιπώδης νόσος του ήπατος, ισχαιμία-επαναιμάτωση, βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, εκτεταμένη ηπατεκτομή

## Abstract

**Background/Aims:** Hepatic steatosis is an independent aggravating factor for liver surgery and transplantation, causing severe liver injury and has deleterious effects when associated with ischemia-reperfusion mechanism. Ischemic preconditioning significantly improves survival in lean and fatty livers after prolonged hepatic ischemia and reperfusion, by improving the micro-circulation and the reduction of lipid peroxidation. Our objective was to investigate the effect of ischemic preconditioning to prolonged liver ischemia and extensive hepatectomy in severe hepatic steatosis.

**Methods:** Severe hepatic steatosis was performed by 12-14 weeks choline-free diet in Wistar rats. The effect of ischemic preconditioning was examined in steatotic and lean livers who subjected to hepatic ischemia-reperfusion injury and extended hepatectomy. We induced 30-minute ischemia-reperfusion manipulation and extensive hepatectomy with or without prior ischemic preconditioning in steatotic and lean livers, and after 6 and 24 hours of reperfusion IL6, TNF $\alpha$ , endogenous Nitric Oxide, Lactic acid and Glutathion in liver tissue and blood were measured. Also, measurements of AST, ALT, and ALP,  $\gamma$ GT, triglycerides, cholesterol and total lipids were made in the blood at 6 and 24 hours after the end of the experimental manipulations.

**Results:** Steatotic rats subjected only to prolonged hepatic ischemia and reperfusion after extensive hepatectomy, showed extensive liver damage at significantly increased values of TNF $\alpha$  and significantly reduced values of IL6 and NO, while no one rat survived for more than 29 hours. On the contrary, steatotic and lean rats, which 24 hours before ischemia-reperfusion were subjected to intermittent ischemic preconditioning, presented a significant improvement regarding survival (30-day survival for steatotic rats was 67%, and for lean rats was 83.3%) and significantly lower values of TNF $\alpha$ , and Lactic acid, as well as significantly increased values of IL6 and NO. Also, the lean rats that weren't subjected to prophylactic manipulation of ischemic preconditioning, before the induction of ischemia reperfusion injury and extensive hepatectomy, showed significantly greater survival (30-day survival was 67%) compared to steatotic rats, with significantly lower values of TNF $\alpha$ , and Lactic acid, as well as significantly increased values of IL6 and NO. The increase of IL6 and NO and the reduction of TNF $\alpha$  and Lactic acid following intermittent ischemic preconditioning are related to the protective effect of the manipulation in ischemic reperfusion injury in steatotic rats.

**Conclusions:** The ischemia-reperfusion injury (IRI) after major hepatic surgery is the main pathogenic factor determining largely morbidity and mortality. Our results demonstrate the possible positive role played by ischemic preconditioning to improve the outcomes and the survival after prolonged hepatic ischemia, reperfusion and extensive hepatectomy.

**Keywords:** Repeated ischemic preconditioning, intermittent and simple ischemic preconditioning, ischemia-reperfusion injury, extensive hepatectomy, fatty liver disease, steatotic liver.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
Adenosine Triphosphate	Τριφωσφορική αδενοσίνη
Alanine Transaminase	Αλανινική τρανσαμινάση
Alkaline Phosphatase	Αλκαλική φωσφατάση
Aspartate Aminotransferase	Ασπαρτική τρανσαμινάση
B-cell lymphoma	B- Κυτταρικό λέμφωμα
Caspase	Κασπάση
Cholecystokinin	Χολοκυστοκινίνη
Cholesterol	Χοληστερόλη
Choline	Χολίνη
Control group	Ομάδα ελέγχου
Cytochrome P	Κυτόχρωμα P
Deoxyribonucleic Acid	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
Epidermal Growth Factor	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας
Extracellular signal-Regulated Kinases	Εξωκυτάρια κινάση ρυθμιστική της επαγωγής σήματος
Fatty Liver Disease	Λιπώδης Νόσος του Ήπατος
Glutathione	Γλουταθειόνη
Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor	Μακροφαγικός παράγων διέγερσης των αποικιών των κοκκιοκυττάρων
Growth Hormone	Αυξητική ορμόνη
Guanosine Monophosphate	Μονοφωσφορική γουανοσίνη
Heat Shock Proteins	Πρωτεΐνες θερμής καταπληξίας
Hepatic Stellate Cells	Ήπατικά αστεροειδή κύτταρα
High Mobility Group Box 1	Ομάδα υψηλής κινητικότητας πλαισίου 1
Hypoxia-Inducible Factor 1	Παράγοντας που προκαλεί υποξία 1
Insulin-like growth Factor 1	Αυξητικός παράγων ομοιάζων στην ινσουλίνη 1
Intercellular Adhesion Molecule 1	Διακυττάριο μόριο προσκόλλησης 1
Interferon $\gamma$	Ιντερφερόνη $\gamma$
Interleukin	Ιντερλευκίνη
Interleukin	Ιντερλευκίνη
Ischemia Reperfusion	Ισχαιμία - επαναιμάτωση
Ischemia reperfusion injury	Βλάβη από ισχαιμία - επαναιμάτωση
Ischemic preconditioning	Ισχαιμική προσαρμοστικότητα, ή ισχαιμική προετοιμασία, ή ισχαιμική προσαρμογή, ή ισχαιμική προγύμναση
Isoflurane	Ισοφλουράνιο
Lactate Dehydrogenase	Γαλακτική δεϋδρογενάση
Lactic acid	Γαλακτικό οξύ
Large Granular Lymphocyte	Μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα
Leukotriene B4	Λευκοτριένη B4
Macrophage Inflammatory Protein	Μακροφαγική φλεγμονώδης πρωτεΐνη
Major Histocompatibility Complex	Μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας

Mitochondrial Permeability Transition	Αλλαγή της μιτοχονδριακής διαπερατότητας
Mitogen-Activated Protein Kinases	Πρωτεϊνικές κινάσες ενεργοποιούμενες από μιτογόνα
Natural Killer	Φυσικός φονέας
Nicotinamide Adenine Dinucleotide	Νικοτινάμινο-αδένινο-δινουκλεοτίδιο
Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-oxidase	Νικοτινάμινο-αδένινο-δινουκλεοτίδιο φωσφορική οξειδάση
Nitric oxide	Μονοξειδίο του αζώτου, ή νιτρικό οξείδιο (αναφέρεται το ενδογενές)
Nitric Oxide Synthase	Συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου (ή του Νιτρικού οξειδίου)
Normal liver	Φυσιολογικό ήπαρ
Normal rat	Φυσιολογικός επίμυς
Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells	Πυρηνικός παράγων που ενισχύει την Κάππα ελαφρά άλυσο των ενεργοποιημένων Β κυττάρων
Phosphoinositide 3-Kinase	Φωσφοϊνοσιτίδη 3-κινάση
Phospholipase A2	Φωσφολιπάση A2
Platelet Activating Factor	Παράγων ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων
Prevalence	Επιπολασμός
Reactive Oxygen Species	Ενεργές ρίζες οξυγόνου (ή τοξικές ρίζες οξυγόνου)
Receptor-Interacting serine/threonine-Protein Kinase	Διαδραστικός υποδοχέας των πρωτεϊνικών κινάσων σερίνης/θρεονίνης
Selectine	Σελεκτίνη
Serum Glutamic-Pyruvic Transaminase	Γλουταμινική-οξαλοξική τρανσαμινάση του ορού
Serum Glutamil Oxaloacetic Transaminase	Γλουταμινική-πυροσταφυλική τρανσαμινάση του ορού
Sham operation	Επέμβαση ελέγχου ή ψευδής επέμβαση
Signal Transducer and Activator of Transcription 3	Μεταγωγέας σήματος και ενεργοποιητής της μεταγραφής 3
Steatotic liver	Ήπαρ με στεάτωση ή ήπαρ με λιπώδη διήθηση
Steatotic rat	Επίμυς με ηπατική στεάτωση
Thromboxane A2	Θρομβοξάνη A2
Thyroglobulin	Θυρεοσφαιρίνη
Thyroxine-Binding Globulin	Σφαιρίνη σύνδεσης θυροξίνης
Thyroxine-Binding Pre-Albumin	Προ-Αλβουμίνη που δεσμεύει θυροξίνη
Toll-Like Receptors	Φορητοί υποδοχείς
Total lipids	Ολικά λιπίδια
Transforming Growth Factor	Μετατροπέας του αυξητικού παράγοντα
Triglycerides	Τριγλυκερίδια
Tumor Necrosis Factor	Παράγοντας Νέκρωσης των Όγκων
Vascular Endothelial Growth Factor	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγων
Very Low Density Lipoproteins	Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες
γ-Glutamy-Transpeptidase	γ- Γλουταμυλ-Τρανσπεπτιδάση

## ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Ακρωνύμιο	Ανάπτυξη
ALP	<b>A</b> lkaline <b>P</b> hosphatase
ALT	<b>A</b> lanine <b>T</b> ransaminase
AST	<b>A</b> spartate <b>A</b> minotransferase
ATP	<b>A</b> denosine <b>T</b> riphosphate
Bcl	<b>B</b> -cell lymphoma
CCK	<b>C</b> holecystokinin
CHOL	<b>C</b> holesterol
CYP	<b>C</b> ytochrome <b>P</b>
DNA	<b>D</b> eoxyribonucleic <b>A</b> cid
EGF	<b>E</b> pidermal <b>G</b> rowth <b>F</b> actor
ERK	<b>E</b> xtracellular signal- <b>R</b> egulated <b>K</b> inases
FLD	<b>F</b> atty <b>L</b> iver <b>D</b> isease
GH	<b>G</b> rowth <b>H</b> ormone
GM-CSF	<b>G</b> ranulocyte <b>M</b> acrophage <b>C</b> olony- <b>S</b> timulating <b>F</b> actor
GMP	<b>G</b> uanosine <b>M</b> onophosphate
GSH	<b>G</b> lutathione
HIF1	<b>H</b> ypoxia- <b>I</b> nducible <b>F</b> actor 1
HMGB1	<b>H</b> igh <b>M</b> obility <b>G</b> roup <b>B</b> ox 1
HSPs	<b>H</b> eat <b>S</b> hock <b>P</b> roteins
ICAM-1	<b>I</b> ntercellular <b>A</b> dhesion <b>M</b> olecule 1
IGF-1	<b>I</b> nsulin-like <b>g</b> rowth <b>F</b> actor 1
IL	<b>I</b> nterleukin
INF $\gamma$	<b>I</b> nterferon $\gamma$
IPC	<b>I</b> schemic <b>P</b> reconditioning
IR	<b>I</b> schemia <b>R</b> eperfusion
IRI	<b>I</b> schemia <b>R</b> eperfusion <b>I</b> njury
Lactate	<b>L</b> actic <b>A</b> cid
LA	<b>L</b> actic <b>A</b> cid
LDH	<b>L</b> actate <b>D</b> ehydrogenase
LGL	<b>L</b> arge <b>G</b> ranular <b>L</b> ymphocyte
LTB4	<b>L</b> eukotriene <b>B</b> 4
MHC	<b>M</b> ajor <b>H</b> istocompatibility <b>C</b> omplex
MIP	<b>M</b> acrophage <b>I</b> nflammatory <b>P</b> rotein
MPT	<b>M</b> itochondrial <b>P</b> ermeability <b>T</b> ransition
NAD	<b>N</b> icotinamide <b>A</b> denine <b>D</b> inucleotide
NADPH or NOX	<b>N</b> icotinamide <b>A</b> denine <b>D</b> inucleotide <b>P</b> hosphate-oxidase
NF- $\kappa$ B	<b>N</b> uclear <b>F</b> actor <b>k</b> appa-light-chain-enhancer of activated <b>B</b> cells
NO	<b>N</b> itric <b>O</b> xide (στη μελέτη το ενδογενές)
NOS	<b>N</b> itric <b>O</b> xide <b>S</b> ynthase
MAPK	<b>M</b> itogen- <b>A</b> ctivated <b>P</b> rotein <b>K</b> inases
PAF	<b>P</b> latelet <b>A</b> ctivating <b>F</b> actor
PI3K	<b>P</b> hosphoinositide 3- <b>K</b> inase
PLA2	<b>P</b> hospholipase <b>A</b> 2
RIPK	<b>R</b> eceptor- <b>I</b> nteracting serine/threonine- <b>P</b> rotein <b>K</b> inase

ROS	<b>Reactive Oxygen Species</b>
SGOT	<b>Serum Glutamyl Oxaloacetic Transaminase</b>
SGPT	<b>Serum Glutamic-Pyruvic Transaminase</b>
STAT3	<b>Signal Transducer and Activator of Transcription 3</b>
TBG	<b>Thyroxine-Binding Globulin</b>
TBPA	<b>Thyroxine-Binding Pre-Albumin</b>
TG	<b>Thyroglobulin</b>
TGF	<b>Transforming Growth Factor</b>
TLIP	<b>Total Lipids</b>
TLRs	<b>Toll-Like Receptors</b>
TNF	<b>Tumor Necrosis Factor</b>
VEGF	<b>Vascular Endothelial Growth Factor</b>
VLDL	<b>Very Low Density Lipoproteins</b>
γGT	<b>γ-Glutamy-Transpeptidase</b>
NK	<b>Natural Killer</b>
TXA2	<b>Thromboxane A2</b>
ΚΛΟΑ	<b>Κατά Λεπτό Όγκος Αίματος</b>



# Ευρετήριο Πινάκων, Εικόνων, Σχημάτων

σελίδα

## Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1	Σύσταση Δίαιτας ελεύθερης χολίνης	100
Πίνακας 2	Μετρήσεις πειραματικών παραμέτρων σε ηπατικό ιστό και αίμα	108

## Ευρετήριο Εικόνων

Εικόνα 1	Σχηματική απεικόνιση του ηπατικού λοβίου	27
Εικόνα 2	Οι λοβοί του ήπατος	33
Εικόνα 3	Μακροκενοτοπιώδης λιπώδης εκφύλιση του ηπατικού παρεγχύματος και του ηπατοκυττάρου	68
Εικόνα 4	Μακροκενοτοπιώδης λιπώδης εκφύλιση του ηπατικού παρεγχύματος και του ηπατοκυττάρου	68
Εικόνα 5	Μικτή λιπώδης διήθηση του ηπατικού παρεγχύματος και του ηπατοκυττάρου	69
Εικόνα 6	Βασική διάκριση των ηπατικών λοβών στους επίμυες	89
Εικόνα 7	Τα ηπατικά αγγεία για τα τμήματα του δεξιού πλάγιου ηπατικού λοβού είναι ευδιάκριτα και εύκολα παρασκευαζόμενα, επιτρέποντας την πραγματοποίηση χειρισμών αγγειακού αποκλεισμού	91
Εικόνα 8	Διαφορά σωματικού μεγέθους μεταξύ φυσιολογικών επίμυων και επίμυων με ηπατική στεάτωση	101
Εικόνα 9	Αναισθητοποίηση σε ειδικό κλωβό ατμών ισοφλουρανίου	103
Εικόνα 10	Διασωλήνωση ζωικού προτύπου με χρήση φλεβοκαθετήρα 16G	103
Εικόνα 11	Χειρισμός ελέγχου (Sham operation)	104
Εικόνα 12	Εκτεταμένη ηπατεκτομή	105
Εικόνα 13	Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις σε φυσιολογικούς επίμυες	111
Εικόνα 14	Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις σε επίμυες με ηπατική στεάτωση	113

## Ευρετήριο Σχημάτων

Σχήμα 1	Ποσοστό ηπατικής λιπώδους διήθησης μεταξύ των ομάδων ελέγχου E1 και E2	109
Σχήμα 2	Κοινή συμεταβλητότητα των τιμών της IL6 μεταξύ επίμυων με ηπατική στεάτωση και φυσιολογικών στον ηπατικό ιστό	116
Σχήμα 3	Διακύμανση των τιμών της IL6 στον ηπατικό ιστό	117
Σχήμα 4	Έλεγχος της συμεταβλητότητας των τιμών της IL6 στο αίμα	118
Σχήμα 5	Διακύμανση των τιμών της IL6 στο αίμα	119
Σχήμα 6	Διάγραμμα ελέγχου συμεταβλητότητας του TNFα στον ηπατικό ιστό	120
Σχήμα 7	Διακύμανση των τιμών του TNFα στον ηπατικό ιστό	121
Σχήμα 8	Διάγραμμα ελέγχου της συμεταβλητότητας του TNFα στο αίμα	122
Σχήμα 9	Διακύμανση των τιμών του TNFα στο αίμα	123
Σχήμα 10	Διάγραμμα ελέγχου της συμεταβλητότητας των τιμών του Μονοξειδίου του Αζώτου (NO) στον ηπατικό ιστό	124
Σχήμα 11	Διακύμανση των τιμών του NO στον ηπατικό ιστό	124
Σχήμα 12	Διάγραμμα ελέγχου της συμεταβλητότητας των τιμών του NO στο αίμα	126
Σχήμα 13	Διακύμανση των τιμών του NO στο αίμα	127
Σχήμα 14	Διάγραμμα ελέγχου της συμεταβλητότητας του Γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό	128
Σχήμα 15	Διακύμανση των τιμών του γαλακτικού οξέος (Lactate) στον ηπατικό ιστό	129
Σχήμα 16	Διάγραμμα ελέγχου της συμεταβλητότητας του γαλακτικού οξέος στο αίμα	130
Σχήμα 17	Διακύμανση των τιμών του γαλακτικού οξέος στο Ααίμα	131
Σχήμα 18	Διάγραμμα ελέγχου της συμεταβλητότητας των τιμών της γλουταθειόνης στον ηπατικό ιστό	132
Σχήμα 19	Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στον ηπατικό ιστό	132
Σχήμα 20	Διάγραμμα ελέγχου της συμεταβλητότητας των τιμών της γλουταθειόνης στο αίμα	134

Σχήμα 21	Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στο αίμα	134
Σχήμα 22	Διακυμάνσεις της AST στο αίμα	136
Σχήμα 23	Διακυμάνσεις της ALT στο αίμα	137
Σχήμα 24	Διακυμάνσεις της Αλκαλικής Φωσφατάσης στο αίμα	138
Σχήμα 25	Διακύμανση τιμών της γ-Γλουταμυλ-Τρανσπεπτιδάσης στο αίμα	140
Σχήμα 26	Διάγραμμα ελέγχου της μεταβλητότητας των τριγλυκεριδίων στο αίμα	141
Σχήμα 27	Διακύμανση των τιμών των Τριγλυκεριδίων στο αίμα	142
Σχήμα 28	Διακύμανση των τιμών της χοληστερόλης στο αίμα	142
Σχήμα 29	Διακύμανση των τιμών των Ολικών Λιπιδίων στο αίμα	143
Σχήμα 30	Διακύμανση των τιμών της AST στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	146
Σχήμα 31	Διακύμανση των τιμών της ALT στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	147
Σχήμα 32	Διακύμανση των τιμών της γGT στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	148
Σχήμα 33	Διακύμανση των τιμών της ALP στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	148
Σχήμα 34	Διακύμανση των τιμών των Τριγλυκεριδίων στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	149
Σχήμα 35	Διακύμανση των τιμών της IL6 στον ηπατικό ιστό των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	150
Σχήμα 36	Διακύμανση των τιμών της IL6 στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-	150

	επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	
Σχήμα 37	Διακύμανση των τιμών του TNFα στον ηπατικό ιστό των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	151
Σχήμα 38	Διακύμανση των τιμών του TNFα στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	151
Σχήμα 39	Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στον ηπατικό ιστό των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	152
Σχήμα 40	Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	153
Σχήμα 41	Διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	154
Σχήμα 42	Διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	154
Σχήμα 43	Διακύμανση των τιμών του NO στον ηπατικό ιστό των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	155
Σχήμα 44	Διακύμανση των τιμών του NO στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου	155
Σχήμα 45	Διακύμανση των τιμών της AST στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC	157
Σχήμα 46	Διακύμανση των τιμών της ALT στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC	157

Σχήμα 47	Διακύμανση των τιμών της γGT στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC	158
Σχήμα 48	Διακύμανση των τιμών της ALP στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC	158
Σχήμα 49	Διακύμανση των τιμών των Τριγλυκεριδίων στο αίμα των επίμυων που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC	159
Σχήμα 50	Διακύμανση των τιμών της IL6 στον ηπατικό ιστό	160
Σχήμα 51	Διακύμανση των τιμών της IL6 στο αίμα	160
Σχήμα 52	Διακύμανση των τιμών του TNFα στον ηπατικό ιστό	161
Σχήμα 53	Διακύμανση των τιμών του TNFα στο αίμα	161
Σχήμα 54	Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στον ηπατικό ιστό	162
Σχήμα 55	Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στο αίμα	162
Σχήμα 56	Διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό	163
Σχήμα 57	Διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος στο αίμα	163
Σχήμα 58	Διακύμανση των τιμών του NO στον ηπατικό ιστό	164
Σχήμα 59	Διακύμανση των τιμών του NO στο αίμα	164
Σχήμα 60	Πιθανότητες 30ήμερης επιβίωσης	166



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ηπατική λιπώδης διήθηση αποτελεί σοβαρή νοσολογική οντότητα για όλες τις σύγχρονες κοινωνίες, με ιδιαίτερη επίπτωση και επιπολασμό στα άτομα με παχυσαρκία. Έχει πολυπαραγοντική αιτιοπαθογένεια, που προκαλείται από την ταυτόχρονη ενεργοποίηση πολλαπλών κυτταρικών διεργασιών, με τελικό αποτέλεσμα την συσσώρευση λιπιδίων στο κυτταρόπλασμα των ηπατικών κυττάρων. Οι εκδηλώσεις ποικίλουν από την απλή ηπατική στεάτωση χωρίς κλινική συμπτωματολογία έως την στεατοηπατίτιδα και την ηπατική κίρρωση. Ακόμα δε και στην ηπιότερη εκδήλωσή της, αυτή της ηπατικής στεάτωσης, αποτελεί ανεξάρτητο σοβαρό επιβαρυντικό παράγοντα για την ηπατική χειρουργική. Η κύρια αιτία είναι η μειωμένη αντοχή στους χειρουργικούς χειρισμούς του ηπατικού παρεγχύματος με στεάτωση, σε σύγκριση με το φυσιολογικό ήπαρ. Ειδικότερα, η ηπατική ισχαιμία παρότι είναι απαραίτητη στην ηπατική χειρουργική για την πρόληψη της αιμορραγίας, αποτελεί το κύριο μηχανισμό της ηπατικής βλάβης.

Οι μηχανισμοί πρόκλησης της ηπατικής βλάβης στην ηπατική στεάτωση δεν έχουν διερευνηθεί ικανοποιητικά. Διάφορα πειραματικά μοντέλα έχουν αναπτυχθεί, προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της συσσώρευσης των λιπιδίων στα ηπατοκύτταρα, οι ιστολογικές και παθοφυσιολογικές μεταβολές, καθώς και οι κλινικές τους εκδηλώσεις. Τα συγκεκριμένα πειραματικά μοντέλα αναπτύσσονται και για την μελέτη της επίδρασης χειρουργικών αλλά και φαρμακολογικών χειρισμών στο ήπαρ με στεάτωση. Σκοπός όλων των παραπάνω είναι η περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών πρόκλησης της ηπατικής βλάβης, αλλά και η ανάπτυξη χειρουργικών ή και φαρμακολογικών χειρισμών για την προφύλαξη από αυτή, μετά από παρατεταμένη έκθεση του ηπατικού παρεγχύματος σε ισχαιμία.

Έχει αποδειχθεί ότι χειρισμοί ισχαιμικής προσαρμογής, δηλαδή μικρής διάρκειας ισχαιμίες πριν την εφαρμογή της παρατεταμένης διάρκειας ισχαιμίας, δρουν προστατευτικά στο ηπατικό παρέγχυμα των πειραματικών μοντέλων και πιθανόν και στο παρέγχυμα των πειραματικών μοντέλων με ηπατική στεάτωση. Για τα πειραματικά μοντέλα με ηπατική στεάτωση τα υπάρχοντα δεδομένα είναι περιορισμένα και υπάρχει πεδίο περαιτέρω έρευνας της εφαρμογής των χειρισμών της ισχαιμικής προσαρμογής.

Η παρούσα μελέτη αποτελείται από δυο μέρη. Στο γενικό μέρος γίνεται αναφορά στην ανατομία και τη φυσιολογία του ήπατος, στην ανάπτυξη, την παθοφυσιολογία και την ταξινόμηση της ηπατικής στεάτωσης, στην επίδραση των χειρουργικών στο ήπαρ με στεάτωση, στα υπάρχοντα πειραματικά μοντέλα, στους προφυλακτικούς χειρισμούς με έμφαση την μηχανική ισχαιμική προσαρμογή και την επίδραση στις παραμέτρους που θα μελετηθούν. Στο ειδικό μέρος αναπτύσσεται η πειραματική χειρουργική μελέτη στην οποία διερευνήθηκε η ανάπτυξη ασφαλούς μοντέλου ηπατικής στεάτωσης σε επίμυες, που επέτρεπε την μελέτη χειρισμού παρατεταμένης ηπατικής ισχαιμίας. Επίσης,

διερευνήθηκε η επίδραση τριπλού χειρισμού ισχαιμικής προσαρμογής 24 ώρες πριν την επίδραση του παρατεταμένης διάρκειας χειρισμού ηπατικής ισχαιμίας.

***Στην παρούσα χειρουργική μελέτη απονεμήθηκε ερευνητική υποτροφία από το Ερευνητικό και Πειραματικό Κέντρο ΕΛΠΕΝ ΑΕ, της φαρμακοβιομηχανίας ΕΛΠΕΝ ΑΕ, όπου και εκπονήθηκε το χειρουργικό μέρος της έρευνας.***



# **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



# 1. ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ

## 1.1 Εισαγωγή

Το ήπαρ αποτελεί σημαντικό και αναγκαίο όργανο για τον άνθρωπο, διαδραματίζοντας ουσιαστικό ρόλο στην επιτέλεση μεγάλου αριθμού ζωτικών λειτουργιών, απαραίτητων για την διατήρηση της ζωής και της εσωτερικής ομοιόστασης. Μέχρι και την 32η εβδομάδα της κύησης αποτελεί το μοναδικό αιμοποιητικό όργανο. Παράγει τη χολή και συμβάλλει στην πέψη, απορρόφηση και τον μεταβολισμό των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών και των λιπών.<sup>1</sup> Συμμετέχει στην αποτοξίνωση και απομάκρυνση από τον οργανισμό πλήθους τοξικών μεταβολικών και φαρμακευτικών παραγόντων, στην παραγωγή ορμονών, στην απομάκρυνση των κατεστραμμένων και γερασμένων έμμορφων στοιχείων του αίματος, στην αποθήκευση γλυκογόνου για την κάλυψη των έκτακτων ενεργειακών αναγκών και στην ομαλή λειτουργία του αιμοστατικού μηχανισμού.<sup>2</sup> Η τεχνητή υποκατάστασή του για την διατήρηση της ζωής είναι αδύνατη. Αποτελεί το μεγαλύτερο συμπαγές όργανο του ανθρώπινου σώματος (καλύπτοντας το 2% του συνολικού ΒΣ), με μέσο φυσιολογικό βάρος 1.4–1.6 kg.<sup>1-3</sup>

## 1.2 Εμβρυολογία

Το ήπαρ είναι ενδοκοιλιακό όργανο ενδοδερμικής προέλευσης, προερχόμενο από τον ακροτελεύτιο σχηματισμό του ουραίου τμήματος του προσθίου εντέρου, εγγύς του λεκιθικού ασκού, που καλείται ηπατικό εκκόλπωμα. Δημιουργείται από την αλληλεπίδραση του ενδοδέρματος με το σπλαγγχνικό μεσέγχυμα, οδηγώντας στην ανάπτυξη των βασικών αρχιτεκτονικών χαρακτηριστικών και στην γένεση των μη διαφοροποιημένων ηπατοβλαστών που θα οδηγήσουν στην παραγωγή των ώριμων και διαφοροποιημένων ηπατικών κυττάρων.<sup>2,4</sup> Σχηματίζεται στο έμβρυο περίπου στο μέσο της τρίτης εβδομάδας κύησης, ενώ η βασική αρχιτεκτονική του σχηματοποιείται την εικοστή εβδομάδα. Το ηπατικό εκκόλπωμα αποτελείται από δυο τμήματα: το κεφαλικό και το ουραίο.<sup>4</sup> Το

κεφαλικό τμήμα είναι το μεγαλύτερο και αποτελεί ουσιαστικά την αρχική καταβολή του ήπατος.<sup>4</sup> Αναπτυσσόμενες οι ηπατικές δοκίδες του εντός του εγκαρσίου διαφράγματος, διασπούν τα υπάρχοντα αγγειακά-φλεβικά στελέχη και δημιουργούν τα ηπατικά κολπώδη τριχοειδή αγγεία. Από το ίδιο σπλαγχνικό μεσέγγυμα του εγκαρσίου διαφράγματος, θα προέλθουν τα κύτταρα του Kupffer, ο ινώδης και ο αιμοποιητικός ιστός.<sup>4,6</sup> Το ουραίο τμήμα επεκτεινόμενο και διατεινόμενο σχηματίζει την χοληδόχο κύστη.<sup>4</sup> Η διαμόρφωση της αγγειακής κατασκευής του ήπατος ξεκινά την 17η εβδομάδα και ολοκληρώνεται την 25η εβδομάδα της κύησης, ενώ η διακριτή θυριδωτή διαμόρφωση των κολπωδών ενδοθηλιακών κυττάρων εμφανίζεται περί την 20η εβδομάδα.<sup>4-8</sup>

### 1.3 Ιστολογία

Βασικό ιστολογικό δομικό συστατικό του ηπατικού παρεγχύματος (σε ποσοστό 80%) είναι το ηπατοκύτταρο, με σχήμα πολυγωνικό, διάμετρο 20-30  $\mu m$  και ηωσινοφιλικό κυτταρόπλασμα, λόγω της μεγάλης πυκνότητας των μιτοχονδρίων και της εκτεταμένης ανάπτυξης του ενδοπλασματικού δικτύου εντός αυτού.<sup>4,5</sup> Ο μεγάλος σφαιρικός πυρήνας τοποθετείται στο κέντρο του κυττάρου, περιβαλλόμενος από αθροίσεις κοκκίων γλυκογόνου και λιπιδίων, από μεγάλο αριθμό υπεροξεισωματίων, μικροσωμάτων και μια εξαιρετικά ανεπτυγμένη συσκευή *Golgi*.<sup>5</sup> Πρόκειται ουσιαστικά για κύτταρα με αυξημένη αναγεννητική ικανότητα, έντονη βιοχημική λειτουργία και μακρό χρόνο ζωής, που σχεδόν προσεγγίζει τους 5 μήνες.<sup>5-12</sup>

Η ιστοική αρχιτεκτονική του ήπατος είναι εξαιρετικά πολύπλοκη. Η βασική μορφολειτουργική δομική μονάδα του ηπατικού παρεγχύματος είναι το ηπατικό λόβιο, το οποίο δημιουργείται από την ακτινωτή σε στοιβάδες διάταξη ευθύγραμμων δοκίδων αποτελούμενων από ένα ή δυο τοίχους ηπατοκυττάρων, πέριξ του κεντρικού άξονα του ηπατικού λοβίου (*Εικόνα 1*).<sup>5</sup> Το ηπατικό λόβιο σχηματίζει ιστοική πολυγωνική κόλπουρη πυραμίδα, διαστάσεων περίπου 1,5x2  $mm$ . Τα ηπατικά λόβια, παρότι είναι δύσκολο να διακριθούν μεταξύ τους λόγω της πολύ στενής επαφής που αναπτύσσουν, υπολογίζονται σε περίπου ένα εκατομμύριο στο φυσιολογικό ήπαρ ενήλικου ανθρώπου.<sup>5-10</sup>

Η περιοχή που συναντώνται οι ακμές δυο ή περισσότερων λοβίων καλείται πυλαίο διάστημα, ενώ η σχισμή που αφορίζεται μεταξύ των πλευρικών επιφανειών δυο ηπατικών λοβίων και συνδέει δυο πυλαία διαστήματα καλείται μεσολόβια σχισμή. Εντός των πυλαίων διαστημάτων και των μεσολόβιων σχισμών πορεύονται κλάδοι της πυλαίας φλέβας, της ηπατικής αρτηρίας, λεμφαγγείων, χολαγγειολίων, και νεύρων, περιβαλλόμενοι από ινώδη συνδετικό ιστό.<sup>3,5</sup>



**Εικόνα 1.** Σχηματική απεικόνιση του ηπατικού λοβίου

Ο συγκεκριμένος συνδετικός ιστός, αποτελεί συνέχεια της ινώδους ηπατικής κάψας, που καταδύεται εντός του ηπατικού παρεγχύματος, δίνοντας πυκνότερη συγκέντρωση στα πυλαία διαστήματα και μόλις υποσημεινόμενη στις ηπατικές μεσολόβιες σχισμές.<sup>5-12</sup> Τα ηπατικά λόβια χωρίζονται μεταξύ τους και από το αφοριστικό πέταλο, που αποτελεί μονή στοιβάδα ηπατοκυττάρων, διαμέσου της οποίας εισέρχονται τα προσαγωγά φλεβίδια, που αποτελούν διακλαδώσεις της πυλαίας φλέβας, προερχόμενα από τις μεσολόβιες ή περιλοβιακές φλέβες.<sup>5</sup> Τα προσαγωγά φλεβίδια αναλύονται σε ένα πολύπλοκο τρισδιάστατο πυκνό δίκτυο κολποειδών τριχοειδών, με επικάλυψη ασυνεχούς θυριδωτού ενδοθηλίου, που δεν διαθέτει βασική στοιβάδα και διατρέχουν όλο το ηπατικό λόβιο (και συγκεκριμένα τις βασικο-πλάγιες επιφάνειες των ηπατοκυττάρων), συγκλείνοντας ακτινωτά προς το κέντρο του, αναστομούμενα συνεχώς μεταξύ τους.<sup>12</sup> Τελικά, στον κεντρικό άξονα του ηπατικού λοβίου

συναντώνται όλα τα κολπώδη τριχοειδή σχηματίζοντας την κεντρική λοβιακή φλέβα. Στο σχηματισμό των ηπατικών κολπώδων τριχοειδών συμβάλλουν εκτός των τελικών κλάδων της πυλαίας φλέβας και ηπατικά αρτηριακά στελέχη, που πορεύονται στα πυλαία διαστήματα. Ουσιαστικά, τα κολπώδη τριχοειδή αποτελούν τα τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία του ήπατος. Το αίμα εντός αυτών κυκλοφορεί με κατεύθυνση από τα πυλαία διαστήματα διαμέσου των κολπωδών τριχοειδών προς τις κεντρικές φλέβες.<sup>5,12</sup>

Οι στοιβάδες των ηπατοκυττάρων διαχωρίζονται από το ενδοθηλιακό τοίχωμα των κολποειδικών τριχοειδών με τον διάμεσο περικολποειδικό χώρο του *Disse* στον οποίο προβάλλουν οι μικρολάχνες των ηπατοκυττάρων. Οι περικολποειδικοί χώροι του *Disse* διαδραματίζουν σημαντική μεταβολική λειτουργία, πραγματοποιώντας την ενεργό ανταλλαγή μεταβολικών προϊόντων και θρεπτικών συστατικών μεταξύ της κυκλοφορίας του αίματος και των ηπατοκυττάρων. Ο συγκεκριμένος χώρος αποτελείται από ίνες κολλαγόνου που αναπτύσσουν δίκτυο επί του οποίου καθλώνονται τα ηπατοκύτταρα. Σε αυτούς επίσης, εντοπίζονται τα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα (*Hepatic Stellate Cells*) που αποθηκεύουν την εξωγενώς χορηγούμενη βιταμίνη Α, τα μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα (*LGL*), καθώς και τα κύτταρα του Kupffer, που είναι φαγοκύτταρα της μονοκυτταρικής σειράς, με αμοιβαδοειδές σχήμα που συμβάλλουν στη άμυνα του ήπατος, στην απομάκρυνση των γερασμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων και των άχρηστων μικροσωματιδίων από την τριχοειδική ηπατική κυκλοφορία.<sup>5,6,13-17</sup> Ο χώρος του *Disse*, τα πυλαία διαστήματα, οι μεσολόβιες σχισμές και ο χώρος μεταξύ του κολπώδους τριχοειδικού ενδοθηλίου και των υποκείμενων ηπατοκυττάρων συναποτελούν την εξωκυττάρια ουσία του ήπατος.<sup>5</sup> Βασικά συστατικά της εξωκυττάριας ουσίας του ήπατος είναι το κολλαγόνο τύπου I, III, IV και V, πρωτεογλυκάνες (όπως ηπαράνη, δερματάνη, θειϊκή χονδροϊτίνη, και υαλουρονικό οξύ) και γλυκοπρωτεΐνες (λαμινίνη, ινονεκτίνη και εντακτίνη). Επίσης είναι υπεύθυνη για την απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων, ορμονών, κυτοκινών και ενζύμων.<sup>5,6</sup>

Τα κολπώδη τριχοειδή αποτελούν εξειδικευμένο δίκτυο τριχοειδών, μέσω του οποίου πραγματοποιείται και ρυθμίζεται η απευθείας ανταλλαγή των μεταβολιτών και η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών από την κυκλοφορία του αίματος. Δημιουργείται από την σύντηξη πυλαίων φλεβικών στελεχών (μεσολόβιες και περιλοβιακές φλέβες) με ακροτελεύτιους κλάδους της ηπατικής αρτηρίας. Η αιματική ροή έχει κεντρομόλο κατεύθυνση, προς την κεντρική λοβιακή φλέβα και μέσω αυτής, προς την συστηματική κυκλοφορία της κάτω κοίλης φλέβας.<sup>9</sup> Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των κολπωδών τριχοειδών του ήπατος είναι η απουσία βασικής μεμβράνης. Τα τριχοειδή καλύπτονται από ένα στρώμα, υψηλής εξειδίκευσης, λεπτών θυριδωτών ενδοθηλιακών κυττάρων, τα οποία μετά τα ηπατοκύτταρα αποτελούν το δεύτερο μεγαλύτερο κυτταρικό πληθυσμό (18-20%) του ήπατος. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν άμεση επαφή με το χώρο του Disse και τις εκεί προβάλλουσες ηπατοκυτταρικές λάχνες, τις οποίες τροφοδοτούν μέσω των θυρίδων τους, που καταλαμβάνουν το 6-8% της κυτταρικής επιφάνειας και έχουν μέση διάμετρο 100-150nm. Οι θυρίδες λειτουργούν ως φίλτρα προστασίας των υποκείμενων παρεγχυματικών ηπατοκυττάρων, αποτρέποντας την επαφή με σωματίδια μεγάλης διαμέτρου. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα, εκτός από τον τυπικό αγγειακό ρόλο τους, παρουσιάζουν και χαρακτήρες των λευκοκυττάρων.<sup>9,10-17</sup> Οι πλέον χαρακτηριστικές ιδιότητες που παρουσιάζουν αφορούν, την ενδοκύτωση μακρομορίων (όπως τα μακροφάγα ενδοκυττώνουν προς αποδόμηση την τρανσφερίνη, την λευκωματίνη, κλπ.), την έκκριση κυτοκινών, την έκφραση μορίων προσκόλλησης των λευκοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων, καθώς και τα μείζονα συμπλέγματα ιστοσυμβατότητας MHC I και MHC II. Βασικό χαρακτηριστικό του τοιχώματος των κολπωδών τριχοειδών του ήπατος είναι η παρουσία των κυττάρων του Kupffer, των αστεροειδών κυττάρων και των μεγάλων κοκκιωδών λεμφοκυττάρων (LGL) που λειτουργούν ως φυσικοί φονιάδες.<sup>9,10-16</sup>

Τα κύτταρα του Kupffer αποτελούν εξειδικευμένα σταθερά ιστικά μακροφάγα, τα οποία είναι στον αυλό του τριχοειδούς και σε συνεχή επαφή με την αιματική ροή. Διαθέτουν κυτταροπλασματικές προσεκβολές και

εμφανίζουν μεγαλύτερη πυκνότητα εγγύς της περιοχής εισόδου και εξόδου του αίματος από τα κολπώδη τριχοειδή. Πιθανόν να ανανεώνονται από τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα, ενώ διατηρούν ένα μικρό μιτωτικό δείκτη που τους επιτρέπει να πολλαπλασιάζονται και να ανανεώνονται σε ειδικές καταστάσεις (όπως, στις βλάβες μετά από ισχαιμία-επανααιμάτωση, στις ηπατεκτομές, στις ηπατοτοξικές βλάβες, κλπ.). Τα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα είναι καθηλωμένα στο χώρο του Disse, μεταξύ ηπατοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων. Αποτελούν αποθήκες της Βιταμίνης Α και των λοιπών ρετινοειδών που προέρχονται εξωγενώς. Έχουν την ικανότητα να συσπώνται (παρακρινική και νευροκρινική ρύθμιση) μεταβάλλοντας τις αντιστάσεις των κολποειδών και συγχρόνως ρυθμίζοντας την πρόσληψη ουσιών.

Τα μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα (*LGL*) προέρχονται από κυκλοφορούντα κύτταρα φυσικούς φονιάδες (*NK*), εντοπίζονται στην ενδοαυλική επιφάνεια των κολπώδων τριχοειδών και συμμετέχουν στη φυσική ανοσία του ήπατος εναντίον μικροβιακών ή και νεοπλασματικών παραγόντων.<sup>10-17</sup> Τα ηπατοκύτταρα σχηματίζουν, με την κορυφαία επιφάνειά τους, το τοίχωμα των χοληφόρων τριχοειδών, που αποτελεί το αρχικό τμήμα του συστήματος των χοληφόρων πόρων. Τα χοληφόρα τριχοειδή σταδιακά αναπτύσσουν πολύπλοκα διασταυρούμενο δίκτυο, διαμέσου των ηπατικών λοβίων και τελικά δημιουργούν στην περιφέρεια τους, τους χοληφόρους αγωγούς ή αγωγούς Hering που τελικά εκβάλλουν στους χοληφόρους πόρους της πυλαίας τριάδας. Η παραγόμενη χολή κινείται από το κέντρο του ηπατικού λοβίου προς την περιφέρεια και τα πυλαία διαστήματα.<sup>5</sup>

Ως ιστολογική μορφολειτουργική μονάδα του ήπατος, μπορεί να θεωρηθεί και το πυλαίο λόβιο, στο κέντρο του οποίου φέρεται πυλαίο διάστημα με την πυλαία τριάδα και αφορίζεται η τριγωνική περιφέρειά του με νοητή γραμμή, που ενώνει στις κορυφές του τριγώνου τρεις γειτονικές κεντρικές φλέβες. Δηλαδή σε κάθε γωνία του τριγώνου υπάρχει μια κεντρική φλέβα από τρία γειτονικά ηπατικά λόβια. Τρίτος τρόπος ιστολογικής μορφολειτουργικής διαίρεσης του ηπατικού παρεγχύματος είναι το



λειτουργικό λόβιο ή ηπατική αδενοκυψέλη (*Rappaport*), που ουσιαστικά αντιστοιχεί σε περιοχή που αρδεύεται από μια περιλοβιακή φλέβα (δηλαδή από τελικό φλεβικό κλάδο της πυλαίας κυκλοφορίας) και ένα ακροτελεύτιο κλάδο της ηπατικής αρτηρίας, ενώ τη χολή απάγει ένας μικρός χοληφόρος πόρος που αποτελεί την απαρχή του σχηματισμένου απεκκριτικού χοληφόρου συστήματος του ήπατος.<sup>5</sup> Θεωρείται ότι αυτού του είδους η λειτουργική διάκριση, αντανakλά αντιπροσωπευτικότερα και κάνει περισσότερο κατανοητές τις ηπατικές βλάβες.<sup>5</sup> Στην ηπατική αδενοκυψέλη παρατηρείται διαφορετική μεταβολική συμπεριφορά των ηπατοκυττάρων, ανάλογα ως προς τη θέση τους σε σχέση με την πυλαία τριάδα και την κεντρική λοβιακή φλέβα. Έτσι η ηπατική αδενοκυψέλη διακρίνεται σε τρεις ξεχωριστές ζώνες τις Z1, Z2, Z3. Αναλυτικότερα η Z1 αποτελεί την περιπυλαία ζώνη ευρισκόμενη σε επαφή με την πυλαία τριάδα, η Z3 βρίσκεται εγγύς της κεντρικής λοβιακής φλέβας δηλαδή εγγύς της φλεβικής παροχέτευσης αποτελώντας την περικεντρική ζώνη και η Z2 εντοπίζεται μεταξύ των Z1 και Z3 αποτελώντας την μεταβατική ζώνη.<sup>5,12</sup>

## **1.4 Ανατομία**

### **1.4.1 Γενικά χαρακτηριστικά**

*Το ήπαρ αποτελεί το μεγαλύτερο συμπαγές όργανο του ανθρωπίνου σώματος και συγχρόνως το μεγαλύτερο όργανο της κοιλίας (Εικόνα 2).<sup>3</sup> Έχει μαλθακή και εύθρυπτη σύσταση, καστανέρυθρη χροιά, ενώ περιβάλλεται από ινώδη κάψα (κάψα του Glisson) κατά το μεγαλύτερο μέρος του. Βρίσκεται κάτωθεν του διαφράγματος, καλύπτεται σχεδόν ολοκληρωτικά από τις κατώτερες πλευρές και τους αντίστοιχους πλευρικούς χόνδρους, καταλαμβάνοντας το δεξιό υποχόνδριο και σημαντικό τμήμα του επιγαστρίου.<sup>3</sup> Η σπλαγχνική επιφάνεια έρχεται σε επαφή με την ενδοκοιλιακή μοίρα του οισοφάγου, τον στόμαχο, το δωδεκαδάκτυλο, τον δεξιό νεφρό με το σύστοιχο επινεφρίδιο, τη δεξιά κολική καμπή και το μεγαλύτερο τμήμα του εγκαρσίου κόλου, ενώ με την άνω ή διαφραγματική επιφάνειά έρχεται σε άμεση επαφή με το διάφραγμα.*

Το μέσο φυσιολογικό βάρος του ήπατος κυμαίνεται από 1.4kg έως 1.6kg, ενώ στον ζώντα πρέπει να προστεθεί βάρος 0.4-0.8kg που αντιστοιχεί στην ποσότητα του αίματος που περιέχεται στο ήπαρ. Το ήπαρ δέχεται περίπου 1400 ml/min που ισοδυναμεί με το 12% του ΚΛΟΑ.<sup>3</sup> Δέχεται αιμάτωση τόσο από την ηπατική αρτηρία, όσο και από την πυλαία φλέβα. Από την ηπατική αρτηρία λαμβάνει καλά οξυγονωμένο αίμα, που αντιστοιχεί στο 25% της ηπατικής αιμάτωσης. Αντίθετα, από την πυλαία φλέβα λαμβάνει αίμα πτωχό σε οξυγόνο από το στομάχο, το λεπτό έντερο, το μεγαλύτερο μέρος του παχέος εντέρου, το πάγκρεας και τον σπλήνα, ενώ συγχρόνως δέχεται όλα τα απορροφώμενα θρεπτικά συστατικά (υδατάνθρακες, λιπίδια και πρωτεΐνες), τους ηλεκτρολύτες, τα ιχνοστοιχεία και τις βιταμίνες. Αποτελεί έτσι το σημαντικότερο όργανο του ανθρωπίνου σώματος, που ρυθμίζει τις βασικές μεταβολικές παραμέτρους, καθώς και το μεταβολισμό των βασικών θρεπτικών συστατικών.<sup>3</sup>

Στο ήπαρ διακρίνουμε μια κάτω-οπίσθια ή σπλαχνική επιφάνεια και μια άνω-προσθιοπίσθια ή διαφραγματική επιφάνεια, που διακρίνονται μεταξύ τους από το οξύ κάτω χείλος του ήπατος, το οποίο αμβλύνεται καθώς φέρεται προς τα έξω και πίσω (Εικόνα 3).<sup>3</sup> Στην κάτω-οπίσθια ή σπλαχνική επιφάνεια εντοπίζεται βαθιά εγκάρσια σχισμή που συνδέει τις δύο οβελιαίες αύλακες της σπλαχνικής επιφανείας σχηματίζοντας το γράμμα «H».<sup>3</sup>

Η εγκάρσια σχισμή αποτελεί την πύλη του ήπατος από την οποία εισέρχονται η δεξιά και αριστερά ηπατική αρτηρία, ο δεξιός και αριστερός κύριος κλάδος της πυλαίας φλέβας, νεύρα και εξέρχονται ο δεξιός και αριστερός ηπατικός πόρος.<sup>3</sup> Στην αριστερά οβελιαία αύλακα φέρεται ο στρογγύλος σύνδεσμος (αποφραχθείσα ομφαλική φλέβα) προς τα κάτω και ο φλεβώδης σύνδεσμος (αποφραχθείς φλεβώδης πόρος) προς τα άνω, ενώ στην δεξιά οβελιαία αύλακα, που διευρύνεται προς τα πρόσω, δημιουργείται η κοίτη της χοληδόχου κύστεως και προς τα πίσω το εντύπωμα της κάτω κοίλης φλέβας. Το ήπαρ περιβάλλεται από περιτόναιο, εκτός από το μεγαλύτερο τμήμα της οπίσθιας επιφανείας (μεταξύ των δυο πετάλων του στεφανιαίου συνδέσμου), την κοίτη της χοληδόχου κύστεως

και την ηπατική πύλη.<sup>3,7</sup> Το ήπαρ με την σπλαγγχνική του επιφάνεια έρχεται σε επαφή με την ενδοκοιλιακή μοίρα του οισοφάγου, τον στόμαχο, το δωδεκαδάκτυλο, το δεξιό νεφρό με το σύστοιχο επινεφρίδιο, τη δεξιά κολική καμπή και το μεγαλύτερο τμήμα του εγκαρσίου κόλου, ενώ με την άνω ή διαφραγματική του επιφάνεια έρχεται σε άμεση επαφή με το διάφραγμα (Εικόνα 2).<sup>3</sup> Στην κάτω επιφάνειά του προσκολλάται σταθερά η χοληδόχος κύστη.<sup>3,7</sup>

#### **1.4.2 Ηπατικοί λοβοί και σύνδεσμοι**

Συνήθως το ήπαρ διαιρείται σε δυο λοβούς, τον δεξιό και τον αριστερό λοβό. Αδρά μακροσκοπικά, η διάκρισή τους βρίσκεται σε ένα νοητό επίπεδο που ορίζεται από το αριστερό χείλος της κοίτης της χοληδόχου κύστεως και επεκτείνεται πίσω κατά μήκος του αριστερού χείλους της κάτω κοίλης φλέβας. Ουσιαστικά, οι δυο αδροί λοβοί έχουν ανεξάρτητη αγγείωση από την πυλαία φλέβα και την ηπατική αρτηρία και συγχρόνως ανεξάρτητη φλεβική παροχέτευση στην κάτω κοίλη φλέβα και αποχέτευση της χολής στους δυο κύριους ηπατικούς (δεξιό κι αριστερό) πόρους. Με τη συγκεκριμένη διαίρεση ο τετράπλευρος και ο κερκοφόρος λοβός ανήκουν στον αριστερό ηπατικό λοβό.<sup>3</sup>



**Εικόνα 2.** Οι Λοβοί του ήπατος

Όμως, και κάθε ένας από τους δυο κύριους λοβούς, μπορεί να διαιρεθεί σε τέσσερα ανεξάρτητα μέρη, γεγονός που σημαίνει ότι συνολικά το ήπαρ μπορεί να διαιρεθεί σε οκτώ ανεξάρτητα μεταξύ τους αγγειακά τμήματα

(διαίρεση κατά Couinaud). Τα ανεξάρτητα αυτά τμήματα (I-VIII) αγγειώνονται από ανεξάρτητους κλάδους τις πυλαίας φλέβας και της ηπατικής αρτηρίας, αποχετεύουν τη χολή σε ανεξάρτητους χοληφόρους πόρους, ενώ οι τμηματικές ηπατικές φλέβες παροχετεύουν το αίμα των παρακείμενων ηπατικών τμημάτων. Όλα τα αγγεία και οι τμηματικοί χοληφόροι πόροι πορεύονται μεταξύ των ανεξάρτητων ηπατικών τμημάτων και όχι εντός αυτών (Εικόνα 2).<sup>3</sup>

Από τις ανακάμψεις του περιτοναίου της οπίσθιας διαφραγματικής επιφάνειας του ήπατος προς το οπίσθιο και πλάγιο κοιλιακό τοίχωμα δημιουργούνται οι :

- *Στεφανιαίος σύνδεσμος (πρόσθιο-άνω και οπίσθιο-κάτω πέταλο)*
- *Αριστερός και δεξιός τρίγωνος σύνδεσμος*

Από την ανάκαμψη του περιτοναίου της διαφραγματικής επιφάνειας προς το διάφραγμα δημιουργείται ο:

- *Δρεπανοειδής σύνδεσμος*

Από την ανάκαμψη του περιτοναίου της σπλαγχνικής επιφάνειας προς το έλασσον τόξο του στομάχου και το άνω χείλος της πρώτης μοίρας του δωδεκαδάκτυλου, δημιουργούνται οι:

- *Ηπατογαστρικός σύνδεσμος*
- *Ηπατοδωδεκαδακτυλικός σύνδεσμος*

Τέλος από την αποφραχθείσα ομφαλική φλέβα προκύπτει ο:

- *Στρογγύλος σύνδεσμος*

### **1.4.3 Αρτηρίες και φλέβες του ήπατος**

Η αγγείωση του ήπατος πραγματοποιείται από την πυλαία φλέβα, που συνήθως καλύπτει 70-75% της παροχής αίματος στο ήπαρ και την ηπατική αρτηρία που καλύπτει το υπόλοιπο 25-30% της συνολικής παροχής. Η

απαγωγή του αίματος πραγματοποιείται μέσω των ηπατικών φλεβών που εκβάλλουν στην κάτω κοίλη φλέβα.<sup>3</sup>

Η *πυλαία φλέβα*, προσάγει φλεβικό αίμα πτωχό σε οξυγόνο, πλήρες όμως θρεπτικών ουσιών που έχουν απορροφηθεί από την πεπτική οδό. Η πυλαία φλέβα δέχεται κυρίως το φλεβικό αίμα από την άνω μεσεντέριο φλέβα και την σπληνική φλέβα και πριν την είσοδό της στην πύλη του ήπατος διαιρείται σε δεξιό και αριστερό πυλαίο κλάδο. Ο αριστερός κλάδος παρέχει αιμάτωση στα τμήματα I-IV του ήπατος, ενώ ο δεξιός κλάδος προσφέρει αιμάτωση στα τμήματα V- VIII. Μετά την είσοδο των δυο κύριων πυλαίων φλεβικών κλάδων στο ηπατικό παρέγχυμα, ακολουθεί διαίρεσή τους σε τμηματικούς κλάδους, καθώς πορεύονται μεταξύ των τμημάτων του ήπατος. Ακολουθεί, περαιτέρω κατ' επανάληψη διαίρεση τους, μέχρι του επιπέδου των μικρών φλεβιδίων που παρέχουν τα πυλαία φλεβίδια (ή πυλαίους μεσολόβιους φλεβικούς κλάδους) που βρίσκονται στις πυλαίες τριάδες και τα οποία διακλαδίζονται στις περιλοβιακές φλέβες. Οι τελευταίες δίνουν τα διεισδυτικά φλεβίδια που αναλύονται στα ηπατικά κολπώδη τριχοειδή.<sup>3,12</sup>

Η *ηπατική αρτηρία*, ως κλάδος της κοιλιακής αρτηρίας προσάγει μόνο αρτηριακό αίμα, πλούσιο σε οξυγόνο. Η ηπατική αρτηρία στην πύλη του ήπατος, πριν εισέλθει στο ηπατικό παρέγχυμα διαιρείται σε δυο κύριους κλάδους, την αριστερά και την δεξιά ηπατική αρτηρία. Στη συνέχεια οι φερόμενες μεταξύ των ηπατικών τμημάτων αρτηρίες, χορηγούν κλάδους για αυτά και εν συνεχεία εισέρχονται στα αντίστοιχα τμήματα. Ακολουθούν συνεχείς διαιρέσεις, μέχρι να σχηματιστούν οι μεσολόβιες αρτηρίες, που πορεύονται στα πυλαία διαστήματα. Αυτές εισέρχονται στα κολπώδη τριχοειδή, όπου γίνεται η ανάμιξη αρτηριακού και φλεβικού αίματος, με κατεύθυνση προς το κέντρο του ηπατικού λοβίου και την κεντρική λοβιακή φλέβα.<sup>3,12</sup>

Η *φλεβική αποχέτευση* επιτυγχάνεται με τις ηπατικές φλέβες, οι οποίες παροχετεύουν το αίμα στην κάτω κοίλη φλέβα. Τα ηπατικά κολπώδη τριχοειδή καταλήγουν ακτινωτά στο κέντρο του ηπατικού λοβίου όπου σχηματίζουν την κεντρική λοβιακή φλέβα. Η κεντρική λοβιακή φλέβα

συνεχώς αυξάνεται σε μέγεθος και εξερχόμενη από το ηπατικό λόβιο σχηματίζει την υπολόβια φλέβα. Οι τελευταίες συνεχώς συνενούμενες μεταξύ τους σχηματίζουν τελικώς τις 3 κύριες ηπατικές φλέβες (δεξιά, μέση και αριστερή ηπατική φλέβα), οι οποίες μαζί με τις υπάρχουσες επικουρικές ηπατικές φλέβες, εκβάλλουν καθεμία ξεχωριστά, απευθείας στην κάτω κοίλη φλέβα, απάγοντας το φλεβικό αίμα του ήπατος.<sup>12</sup>

#### **1.4.4 Λεμφαγγεία του ήπατος**

στο ήπαρ παράγεται σε καθημερινή βάση σχεδόν το 1/3-1/2 της παραγομένης λέμφου όλου του σώματος. Η ηπατική λέμφος παράγεται στον περικολποειδικό χώρο και αμέσως οδηγείται στα αρχικά λεμφαγγεία που σχηματίζονται μεταξύ των ηπατοκυττάρων και του ινώδους συνδετικού ιστού των πυλαίων διαστημάτων. Συνενούμενα τα ηπατικά λεμφαγγεία εκβάλλουν στους λεμφαδένες της ηπατικής πύλης και αμέσως μετά, ακολουθώντας τα λεμφαγγεία και τους λεμφαδένες της ηπατικής και της κοιλιακής αρτηρίας, καταλήγουν στον μείζονα θωρακικό πόρο. Ομάδα λεμφαγγείων παροχετεύεται στα λεμφαγγεία της κάτω κοίλης φλέβας και μέσω αυτών καταλήγει στους φρενικούς και παραστερνικούς λεμφαδένες. Τα λεμφαγγεία εγγύς της οπίσθιας επιφάνειας του ήπατος, που είναι ακάλυπτη από περιτόναιο, εισέρχονται απευθείας στο διάφραγμα και εκβάλλουν σε επιφρενικούς λεμφαδένες και σπανιότερα σε λεμφαδένες του μεσοθωρακίου.<sup>12</sup>

#### **1.4.5 Χολικά αγγεία του ήπατος**

Με την κορυφαία επιφάνειά τους, τα ηπατοκύτταρα σχηματίζουν το τοίχωμα των χοληφόρων τριχοειδών, τα οποία στερούνται τοιχώματος. Τα χοληφόρα τριχοειδή σταδιακά αναπτύσσουν ένα πολύπλοκο διασταυρούμενο δίκτυο, διαμέσου των ηπατικών λοβίων, δημιουργώντας στην περιφέρεια, τους χοληφόρους αγωγούς ή αγωγούς Hering. Οι τελευταίοι εκβάλλουν στους χοληφόρους πόρους της πυλαίας τριάδας, που είναι η πρώτη δομή με τοίχωμα αποτελούμενο από επιθηλιακά κύτταρα. Οι μεσολόβιοι χοληφόροι πόροι συνενώνονται διαρκώς μεταξύ τους σε μεγαλύτερης διαμέτρου χοληφόρους πόρους (περιλόβιους και

μεσολόβιους), που ακολουθώντας τα άλλα δυο στοιχεία της πυλαίας τριάδας (τον πυλαίο φλεβικό κλάδο και τον κλάδο της ηπατικής αρτηρίας) καταλήγουν στην πύλη του ήπατος, όπου δημιουργούν τον δεξιό και αριστερό ηπατικό κλάδο. Στο σημείο αυτό της πύλης, διαχωρίζεται η ενδοηπατική από την εξωηπατική χοληφόρο οδό. Η εξωηπατική χοληφόρος οδός συνεχίζει με την συνένωση των δυο ηπατικών πόρων στον κοινό ηπατικό πόρο, οποίος μετά την συμβολή του με τον κυστικό πόρο ονομάζεται χοληδόχος πόρος. Ο τελευταίος μετά από πορεία μέσα στον ηπατοδωδεκαδακτυλικό σύνδεσμο μήκους 6-8cm, φέρεται όπισθεν της πρώτης μοίρας του δωδεκαδακτύλου και εκβάλλει στο οπίσθιο τοίχωμα της δεύτερης μοίρας αυτού, συνήθως μαζί με τον παγκρεατικό πόρο στην μείζονα δωδεκαδακτυλική θηλή (φύμα του *Vater*).<sup>18</sup>

#### **1.4.6 Νεύρωση του ήπατος**

Το ήπαρ δέχεται συμπαθητική και παρασυμπαθητική νεύρωση. Η συμπαθητική νεύρωση προέρχεται από μεταγαγγλιακές ίνες μέσω του κοιλιακού πλέγματος, από τα Θ<sub>6</sub>-Θ<sub>11</sub> νευροτόμια, με ενδιάμεση στάση στα γάγγλια του συμπαθητικού συστήματος. Η διέγερση του συμπαθητικού καταλήγει σε ανακατανομή της ροής του αίματος στο ήπαρ. Η παρασυμπαθητική νεύρωση παρέχεται από τα πνευμονογαστρικά νεύρα μέσω του κοιλιακού πλέγματος. Από το αριστερό πνευμονογαστρικό νεύρο εξέρχεται ο ηπατικός κλάδος, που εισέρχεται στο ήπαρ από την πύλη του. Οι συμπαθητικές και παρασυμπαθητικές ίνες εισέρχονται από την πύλη του ήπατος και ακολουθούν παράλληλη πορεία με τους κλάδους της πυλαίας φλέβας, της ηπατικής αρτηρία και των ηπατικών χοληφόρων πόρων.<sup>18</sup>

#### **1.5 Φυσιολογία**

Το ήπαρ διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της ομοιοστασίας του οργανισμού, ρυθμίζοντας το σύνολο του μεταβολισμού. Ευθύνεται για τη σύνθεση των πρωτεϊνών, το μεταβολισμό των υδατανθράκων και των λιπιδίων, τη παραγωγή της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων. Είναι επίσης υπεύθυνο για την παραγωγή ενζύμων απαραίτητων για την πέψη

των τροφών, καθώς και για την κάθαρση και την απομάκρυνση των επιβλαβών ουσιών.<sup>18,19</sup>

Το ήπαρ μπορεί να θεωρηθεί λειτουργικά ως ο μεγαλύτερος μικτός αδένας (ενδοκρινούς και εξωκρινούς έκκρισης). Η χολή αποτελεί το προϊόν της εξωκρινούς μοίρας, ενώ η ενδοκρινής μοίρα παρουσιάζει παρακρινή, αυτοκρινή και ενδοκρινή λειτουργία. Με τη έκκριση της χολής, το ήπαρ αποτελεί αναπόσπαστο τμήμα της πεπτικής οδού, μιας και είναι συνυπεύθυνο με το πάγκρεας για την απορρόφηση των λιπιδίων. Η χολή αποτελεί το προϊόν της εξωκρινούς μοίρας του ήπατος, που παροχετεύεται στο δωδεκαδάκτυλο, με μικρή ποσότητα να αποθηκεύεται προσωρινά στη χοληδόχο κύστη. Η χολή, περιέχει νερό, ηλεκτρολύτες, χολικά οξέα, χοληστερόλη, φωσφολιπίδια, λεκιθίνη και γλυκουρονισμένη χολερυθρίνη από την αποδόμηση της αιμοσφαιρίνης και της μυοσφαιρίνης. Η χολή περιέχει τα αναγκαία ένζυμα για την πέψη των λιπών και των λιποδιαλυτών βιταμινών. Το ήπαρ συνήθως παράγει και απεκκρίνει προς το δωδεκαδάκτυλο 500-900ml/24h χολής μέσω του χοληφόρου συστήματος.<sup>18,19</sup>

Ως προς την συμμετοχή του στην ενδοκρινική λειτουργία, το ήπαρ είναι υπεύθυνο για τον μεταβολισμό των περισσοτέρων ορμονικών δρώντων μορίων που εκκρίνει ο οργανισμός, όπως το μόριο της ινσουλίνης (που καταβολίζεται σε αυτό). Χαρακτηριστικό παράδειγμα παρακρινούς δράσης είναι η παραγωγή και απελευθέρωση του ηπατικού αυξητικού παράγοντα (*HGF*) από τα αστεροειδή κύτταρα μετά από ηπατική ισχαιμία. Αντίστοιχα, τα ηπατοκύτταρα παρουσιάζουν αυτοκρινή έκκριση με απελευθέρωση του αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού (*TGF $\alpha$* ), οδηγώντας στην παραγωγή τοπικά παραγόμενων αυξητικών παραγόντων (*VEGF*, *EGF*) και κυτταροκινών (*IL-6*, *TNF $\alpha$* ) που οδηγούν στην φλεγμονή, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και στην ηπατική αναγέννηση, ως απάντηση στη βλάβη που προκαλεί η ηπατική ισχαιμία.<sup>9</sup>

Η ακριβής ενδοκρινής λειτουργία του ήπατος περιορίζεται στην παραγωγή αυξητικών παραγόντων (σωματομεδίνες), θρομβοποιητίνης και αγγειοτενσινογόνου, το οποίο με την επίδραση της νεφρικής ρενίνης θα



μετατραπεί στην αγγειοενεργό αγγειοτενσίνη. Από τους αυξητικούς παράγοντες, ο σημαντικότερος είναι ο αυξητικός παράγοντας που ομοιάζει στην ινσουλίνη (*IGF-1*), ο οποίος επιδρά στην υπόφυση αναστέλλοντας την απελευθέρωση της αυξητικής ορμόνης (*GH*), επηρεάζοντας με αυτόν τον τρόπο τον μεταβολισμό των υδατανθράκων και των πρωτεϊνών. Στο ήπαρ όμως συντίθενται μη ειδικές (λευκωματίνη) και ειδικές δεσμευτικές μεταφορικές πρωτεΐνες πολλών ορμονών, όπως των θυρεοειδικών (θυρεοδεσμευτική TBPA, σφαιρίνη σύνδεσης με θυροξίνη TBG), των στεροειδών και των φυλετικών ορμονών. Με τον τρόπο αυτό το ήπαρ ρυθμίζει την επίδραση των παραπάνω ορμονών, οι οποίες συγχρόνως καταβολίζονται συνήθως σε αυτό.<sup>9,12,18</sup>

Στο ήπαρ πραγματοποιείται ο ενδιάμεσος μεταβολισμός των αμινοξέων, σακχάρων και λιπιδίων. Με τον τρόπο αυτό, τα θρεπτικά – μεταβολικά υποστρώματα είτε οδηγούνται στον άμεσο καταβολισμό και την παραγωγή ενέργειας (*ATP*), είτε αποθηκεύονται με μορφή μακρομορίων (π.χ. γλυκογόνο), προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε κάποια κατάσταση ανάγκης ή ένδειας του οργανισμού. Μετά την απορρόφησή τους τα αμινοξέα από το πεπτικό, εισέρχονται με την πυλαία κυκλοφορία στο ήπαρ, όπου θα υποστούν την τρανσαμίνωση και την οξειδωτική απαμίνωση, θα χρησιμοποιηθούν για την σύνθεση πολυπεπτιδικών μορίων και πρωτεϊνών, ενώ από την διάσπασή τους στο κύκλου της ουρίας (Krebs-Henseleit) θα απομακρυνθούν οι μεταβολίτες της αμμωνίας από τον οργανισμό. Στο ήπαρ συντίθενται οι παράγοντες πήξης I, II, V, VII, IX, X, XI, η αντιπηκτική πρωτεΐνη S και η αντιθρομβίνη.<sup>18,19</sup>

Η γλυκόζη στο ήπαρ θα υποστεί οξειδωτική φωσφορυλίωση και στη συνέχεια θα χρησιμοποιηθεί για την σύνθεση του ηπατικού γλυκογόνου. Παρόμοια, στο ήπαρ πραγματοποιείται ηπατική νεογλυκογένεση από το γαλακτικό οξύ, τη γλυκερόλη, την αλανίνη και τη γλουταμίνη. Τα λιπίδια στο ήπαρ υφίστανται σύνδεση σε λιποπρωτεΐνες μέσω εστεροποίησης και τελική οξείδωση, ενώ χρησιμοποιούνται και για τη σύνθεση της χοληστερόλης. Εκτός από τη μεταβολική επεξεργασία, το ήπαρ είναι σημαντικό για τον οργανισμό και για την αποθήκευση πολλών άλλων

ουσιών, βιταμινών και μετάλλων. Έτσι το ήπαρ αποθηκεύει τις βιταμίνες A, D, B<sub>12</sub>, το σίδηρο (Fe), τον χαλκό (Cu) κ.ά.<sup>19</sup> Το ήπαρ συμβάλλει στην βιομετατροπή των φαρμακευτικών μορίων και πιθανώς και άλλων τοξικών ουσιών. Τα ηπατοκύτταρα προσλαμβάνουν τα χημικά φαρμακευτικά μόρια μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας, ανεξάρτητα από την οδό χορήγησής τους. Στο ήπαρ υφίστανται τον πρώτο (για τα παρεντερικώς χορηγούμενα) ή τον δεύτερο (για τα εντερικώς χορηγούμενα) μεταβολισμό. Κάποια εξ αυτών καθίστανται ενεργά, ενώ κάποια άλλα αποκτούν υδατοδιαλυτές ιδιότητες προκειμένου να απεκκριθούν από τον οργανισμό. Πρωταρχικό ρόλο στον μεταβολισμό των φαρμάκων διαδραματίζει το κυτόχρωμα *P450 (CYPs)*, στο οποίο μια σειρά από οξειδωτικά, υδρολυτικά και αναγωγικά ένζυμα επιδρά σε πρώτη φάση στο χημικό μόριο. Φάρμακα που κατά την πρώτη κυκλοφορία τους στο αίμα δεν είναι ενεργά, προσλαμβάνονται από το ήπαρ, όπου διασπώμενα, απελευθερώνουν συνήθως τον φαρμακευτικά δραστικό μεταβολίτη τους, ο οποίος αν εξ' αρχής δεν είναι υδατοδιαλυτός, στη δεύτερη δίοδο από το ήπαρ θα υποστεί επιπλέον μεταβολική διάσπαση προς υδατοδιαλυτούς ανενεργούς παράγοντες. Ακολουθεί, η υδατοδιαλυτή σύζευξη και η απέκκριση είτε στη χολή είτε με τα ούρα από τον οργανισμό. Τέλος, το ήπαρ συμμετέχει στο ανοσοποιητικό σύστημα και την άμυνα του οργανισμού. Ανοσολογική δράση παρουσιάζουν τόσο τα ενδοθηλιακά κύτταρα των κολπώδων τριχοειδών του ήπατος, όσο και τα κύτταρα του Kupffer, τα αστεροειδή κύτταρα και τα μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα (LGL).<sup>18,19</sup>

## 2. ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ ΣΤΟ ΗΠΑΡ ΚΑΙ ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΑΠΟ ΙΣΧΑΙΜΙΑ - ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ

### 2.1 Εισαγωγή

Στην μείζονα ηπατική χειρουργική που αφορά κυρίως τις επεμβάσεις ηπατεκτομής και αντιμετώπισης του ηπατικού τραύματος, καθώς και στις μεταμοσχεύσεις ήπατος, είναι αναγκαίο να πραγματοποιηθεί για περιορισμένο χρονικό διάστημα αγγειακός αποκλεισμός του οργάνου.<sup>20-22</sup> Βασικός σκοπός αυτού του χειρισμού είναι να μειωθεί στο ελάχιστο ο κίνδυνος σοβαρής διεγχειρητικής αιμορραγίας, από ένα αγγειοβριθέστατο όργανο που είναι το ήπαρ και η οποία θα δυσκολέψει τους χειρουργικούς χειρισμούς.<sup>20-21</sup> Είναι επίσης γνωστό, ότι η μεγάλη διεγχειρητική απώλεια αίματος συνοδεύεται με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα μετά από μείζονες ηπατικές επεμβάσεις.<sup>20</sup>

Η διάρκεια του αγγειακού αποκλεισμού εξαρτάται από το είδος των χειρισμών που θα πραγματοποιηθούν και μπορεί να αφορά ολικό αποκλεισμό της αρτηριακής και πυλαίας κυκλοφορίας ή μόνο τους δεξιούς ή αριστερούς κλάδους τους, με σκοπό να περιοριστεί ο κίνδυνος της σοβαρής αιμορραγίας.<sup>20-21</sup> Η κατά το δυνατόν ταχύτερη αποκατάσταση της αιματικής κυκλοφορίας, είναι υψίστης σημασίας για την πρόληψη της μη αναστρέψιμης ηπατικής βλάβης.<sup>20-21</sup> Όμως, και η ακολουθούσα την ισχαιμική φάση, επαναιμάτωση αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης σοβαρών ιστικών βλαβών, ανάλογα με την χρονική διάρκεια της ισχαιμίας. Η βλάβη που προκαλείται στους ιστούς από την επαναιμάτωση μετά από ισχαιμία σε ζώντες ιστούς καλείται βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης (*Ischemia Reperfusion Injury – IRI*).<sup>22</sup>

Η επαναιμάτωση του ηπατικού παρεγχύματος ενεργοποιεί τα κύτταρα του Kupffer, οδηγώντας τα στην παραγωγή και απελευθέρωση φλεγμονωδών κυτταροκινών, με κύριους εκπροσώπους τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων άλφα (*TNFα*), τις ιντερλευκίνες 1 και 6 (*IL1, IL6*), τις

προσταγλανδίνες και τις δραστικές ρίζες οξυγόνου (*ROS*). Τον σημαντικότερο ρόλο στον φαύλο κύκλο της συνεχούς ανατροφοδότησης με σήματα ενεργοποίησης των κύτταρων του Kupffer διαδραματίζουν οι *TNFα* και *IL1*, που ενεργοποιούν περισσότερο τα ουδετερόφιλα, τα οποία εκκρίνοντας πρωτεάσες και *ROS* αυξάνουν την ηπατοκυτταρική βλάβη και τη βλάβη στα ενδοθηλιακά κύτταρα.<sup>20,21</sup> Στην επαναιμάτωση παράγεται τόσο μεγάλη ποσότητα *ROS*, που τα κύτταρα του ηπατικού παρεγχύματος αδυνατούν να διαχειριστούν και να απενεργοποιήσουν και τελικά προκαλούνται μη αναστρέψιμες βλάβες στα λιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης, στις κυτταρικές πρωτεΐνες αλλά και στο DNA του πυρήνα και των μιτοχονδρίων. Όλα τα παραπάνω, απαιτούν την υπέρβαση ενός χρονικού ορίου για την ισχαιμία που προηγείται της επαναιμάτωσης.<sup>20-22</sup>

Βασικά είναι αναγκαίο να διευκρινιστεί, ότι για να υπάρξει βλάβη από ισχαιμία-επαναιμάτωση, πρέπει το χρονικό διάστημα της ισχαιμίας να μην έχει οδηγήσει ήδη σε κυτταρολυτικό θάνατο τα κύτταρα του ηπατικού παρεγχύματος. Γιατί, ουσιαστικά με την επαναιμάτωση, θα παρασυρθούν τα προϊόντα της κυτταρικής λύσης του οργάνου που έχει καταστραφεί, στην συστηματική κυκλοφορία προκαλώντας συστηματικές αντιδράσεις. Για να υπάρξει βλάβη από επαναιμάτωση, πρέπει με το πέρας της ισχαιμίας να έχει διατηρηθεί μεγάλη μάζα ηπατοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων οριακά βιώσιμων.<sup>20,21</sup>

Με την επαναιμάτωση, ο *TNFα* και οι παράγοντες φλεγμονής οδηγούν την παραγωγή σειράς πρωτεϊνών (*caspase 3*, *caspase 8*, μιτοχονδριακό κυτόχρωμα *c*) που επάγουν τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο. Οι υπάρχουσες μελέτες υποστηρίζουν την άποψη ότι το είδος του κυτταρικού θανάτου που θα επικρατήσει μετά τη έκθεση σε ισχαιμία και επαναιμάτωση εξαρτάται, από την διάρκεια της ισχαιμίας, τα κυτταρικά ενεργειακά αποθέματα σε *ATP*, την συσσώρευση *ROS* και το βαθμό λιπώδους εκφύλισης του ήπατος. Το ήπαρ με στεάτωση είναι εξαιρετικά ευαίσθητο τόσο στην ισχαιμία όσο και στην επαναιμάτωση, ο κυριότερος δε μηχανισμός κυτταρικού θανάτου είναι η κυτταρική νέκρωση και σε πολύ μικρότερο ποσοστό η απόπτωση.<sup>20-22</sup>

## 2.2 Ισχαιμική Βλάβη

Οι βλάβες από την παρατεταμένη ηπατική ισχαιμία είναι αποτέλεσμα ποικίλων διεργασιών, που ξεκινούν να αναπτύσσονται αρχικά στην φάση διακοπής της ηπατικής ιστικής αιμάτωσης και οξυγόνωσης ως μεταβολικές διαταραχές και εν συνεχεία ως ιστική ηπατική βλάβη που εξελίσσεται σε κυτταρικό επίπεδο.<sup>23</sup> Η έλλειψη γλυκόζης και οξυγόνου από τα κύτταρα διαταράσσει την οξειδωτική φωσφορυλίωση, προκαλώντας ένδεια *ATP* στα μιτοχόνδρια και ταχεία εξάντληση των υπάρχοντων αποθεμάτων. Η έλλειψη ενέργειας με την μορφή του *ATP* προκαλεί διαταραχή των ενεργητικών κυτταρο-μεμβρανικών αντλιών Νατρίου- Καλίου και Ασβεστίου (*Na-K/ATPase*, *Ca/ATPase*), που η ομαλή λειτουργία τους είναι απόλυτα εξαρτημένη από την κατανάλωση ενέργειας και την υποχρεωτική παρουσία ικανών αποθεμάτων *ATP*.<sup>23</sup> Η δυσλειτουργία αυτών των δυο βασικών *ATP*-εξαρτώμενων αντλιών της κυτταρικής μεμβράνης, διαταράσσει την ακεραιότητά της, οδηγώντας την σε αδυναμία διατήρησης των διαφορετικών συγκεντρώσεων των κατιόντων μεταξύ των δυο επιφανειών της. Τελικά, τα ιόντα νατρίου και ασβεστίου εισέρχονται αφειδώς στο κυτταρόπλασμα, ακολουθούμενα από την ωσμωτική είσοδο του ύδατος, που τελικά οδηγεί διόγκωση του κυτταροπλάσματος και εξοίδηση των ηπατοκυττάρων.<sup>23</sup>

Οι ενεργειακές όμως ανάγκες του κυττάρου παραμένουν ακάλυπτες, οδηγώντας το στην αύξηση της γλυκόλυσης, προκειμένου να εξοικονομήσει έστω και πρόσκαιρα οφέλη μικρών ποσοτήτων ενέργειας. Το αποθηκευμένο γλυκογόνο του ήπατος καταναλώνεται, αποσυνδέονται τα ριβοσώματα από την οξειδωτική άλυσο, μειώνεται η πρωτεϊνοσύνθεση, ξεκινά η αποδόμηση των λιπιδίων, ενώ συγχρόνως παρατηρείται ανώμαλη συσσώρευση της πυρηνικής χρωματίνης. Οι παραπάνω εκτροπές, προκαλούν την σταδιακή συσσώρευση προϊόντων του αναερόβιου μεταβολισμού, πτώση του ενδοκυττάρου *pH* και ενδοκυττάρια οξέωση.<sup>23</sup>

Η βλάβη επεκτείνεται και στην μεμβράνη των μιτοχονδρίων, η οποία παρουσιάζει αύξηση της διαπερατότητάς της (*Mitochondrial Permeability Transition - MPT*), επιτρέποντας την είσοδο ύδατος. Η είσοδος του ύδατος

εντός του μιτοχονδρίου, συγχρόνως με την ανώμαλη κινητοποίηση των λιπών λόγω ισχαιμίας που οδηγεί στη συσσώρευση VLDL, προκαλούν την διόγκωση του και επιβαρύνουν σημαντικά τη λειτουργία του. Εκτός από την διόγκωση των μιτοχονδρίων παρατηρείται, διάταση του σαρκοπλασματικού δικτύου και των αποθηκευτικών διογκώσεων του, καθώς και διόγκωση με ταχεία εκφύλιση του κυτταροσκελετού και του ενδοπλασματικού δικτύου. Η διάχυτη εκφύλιση και διόγκωση των ενδοπλασματικών σχηματισμών και οργανιλίων, οδηγεί σε προβολή μεμβρανικών εκφυλιστικών σχηματισμών των ηπατοκυττάρων, διαμέσου των θυρίδων των ενδοθηλιακών κολποειδών τριχοειδών, στον τριχοειδικό αυλό. Τελικώς, προκαλείται διαταραχή της ηπατικής λοβιακής κυκλοφορίας και αύξηση των ενδογενών αγγειακών αντιστάσεων του ήπατος.<sup>23-26</sup>

Σημαντικό ρόλο κατέχουν δυο κρίσιμοι παράγοντες, η διάρκεια της ισχαιμίας και τα ενεργειακά αποθέματα του ηπατοκυττάρου και των υπολοίπων κυτταρικών σειρών του ηπατικού παρεγχύματος. Ισχαιμία που υπερβαίνει τα 30 λεπτά προκαλεί μη αναστρέψιμες κυτταρικές βλάβες και ενεργοποιεί τις διαδικασίες, είτε της απόπτωσης είτε του κυτταρικού θανάτου. Υψηλά ενεργειακά αποθέματα σε *ATP* και όχι σε γλυκογόνο, φαίνεται ότι παρατείνουν την χρονική περίοδο αναστρεψιμότητας της ισχαιμικής βλάβης, παρέχοντας την απαιτούμενη κυτταρική ενέργεια για την διατήρηση των ζωτικών κυτταρικών λειτουργιών. Τα ενδοκυττάρια επίπεδα γλυκογόνου μάλλον δεν επηρεάζουν τις ισχαιμικές βλάβες, μιας και απαιτούν την παρουσία οξυγόνου και αμέραιας αναπνευστικής αλύσου για την πραγματοποίηση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Σίγουρα, ένα ευαίσθητο ή γερασμένο ηπατοκύτταρο δύναται να οδηγηθεί σε κυτταρικό θάνατο και μόνο με την διόγκωσή του. Παρόλα ταύτα, όλες οι παραπάνω περιγραφείσες κυτταρικές διεργασίες αποτελούν μάλλον ένα αρχόμενο και πλήρως αναστρέψιμο αρχικό στάδιο και λιγότερο την αρχική φάση προαναγγελίας του κυτταρικού θανάτου.<sup>23-26</sup>

Η ενζυμική διαφυγή, που αφορά την διάχυση κυτταροπλασματικού υγρού και πρωτεϊνών, από την λειτουργικά και όχι δομικά διαταραγμένη κυτταρική μεμβράνη, μπορεί να αποκατασταθεί πλήρως αν το ισχαιμικό ήπαρ

επαναιματωθεί εντός 30 λεπτών. Σε αυτή την αναστρέψιμη φάση μπορεί να ανιχνευθεί αύξηση των τρανσαμινασών (*AST/ALT*), καθώς και της γαλακτικής αφυδρογονάσης (*LDH*). Μετά την 30λεπτη ισχαιμία, ακολουθεί μέσα σε 5 ώρες ταχεία αύξηση τους και αμέσως μετά σταδιακή μείωση με πλήρη ομαλοποίηση των τιμών τους στις 24 ώρες.<sup>27</sup>

Αντίθετα, όσο παρατείνεται ο χρόνος της ισχαιμίας και καθυστερεί η επαναιμάτωση, επιδεινώνεται η ηπατοκυτταρική λειτουργία και αυξάνονται οι τιμές των τρανσαμινασών (*AST/ALT*) και της γαλακτικής αφυδρογονάσης (*LDH*), σε επίπεδα που χρειάζονται περισσότερο από 24 ώρες προκειμένου να επιστρέψουν στις, προ ισχαιμίας, φυσιολογικές τιμές. Χρονικό διάστημα ισχαιμίας μεταξύ 30-90 λεπτών, οδηγεί σε απώλεια μεγάλου αριθμού ηπατοκυττάρων, όμως συνεχίζει να υπάρχει η δυνατότητα ανάκαμψης της ηπατικής λειτουργίας. Αντίθετα, μετά από 90 λεπτά συνεχούς και πλήρους ηπατικής ισχαιμίας, οι αλλοιώσεις τόσο των ηπατοκυττάρων όσο και των υπολοίπων ειδών κυττάρων (κυρίως ενδοθηλιακών) είναι πλέον μη αναστρέψιμη.<sup>28</sup>

Αυτό που θεωρείται βασικός παράγοντας επιβίωσης για το ηπατοκύτταρο, δηλαδή η ενεργειακή επάρκεια σε αποθέματα *ATP*, αποτελεί συγχρόνως και επιβαρυντικό παράγοντα, μιας που επάγει την ηπατική φλεγμονή. Αυτή η αρνητική επίδραση παρατηρείται όταν υπάρχει ενεργειακό απόθεμα στα κύτταρα του *Kupffer*. Η ισχαιμία ακόμα και για μικρότερο χρονικό διάστημα από αυτό των 30 λεπτών, εφόσον υπάρχει περίσσεια αποθέματος *ATP* στα κύτταρα του *Kupffer*, επαυξάνει την διαδικασία της φαγοκυττάρωσης και αυξάνει κατακόρυφα την παραγωγή των προφλεγμονωδών κυτταροκινών (*TNF $\alpha$* , *IL-1*, *IL-6*, *IL-8*), της θρομβοξανθίνης *A<sub>2</sub>* (*TX<sub>2</sub>*), της επαγωγικής συνθετάσης (*iNOS*) και των προσταγλανδινών.<sup>29,30</sup>

Από τα υπάρχοντα δεδομένα μικρής διάρκειας ισχαιμίες (έως 30 λεπτά) είναι πολύ καλά ανεκτές για το ήπαρ που βρίσκεται σε οριακή ενεργειακή ένδεια (όπως μετά από νηστεία), γιατί δεν επηρεάζουν το ηπατοκύτταρο αλλά και δεν ενεργοποιούν τα κύτταρα του *Kupffer* σε διαδικασία έναρξης φλεγμονής. Έτσι, είναι ευκολότερη η αποκατάσταση της ηπατικής λειτουργίας μετά την επαναιμάτωση.<sup>31-33</sup> Αντίθετα, σε παρατεταμένες

ισχαιμίες, δυστυχώς είναι δύσκολο να καθοριστεί η εξέλιξη των ιστικών βλαβών. Τα ηπατοκύτταρα απαιτούν μεγάλα ενεργειακά αποθέματα με αποτέλεσμα και την έντονη αντίδραση των κυττάρων του *Kupffer* και την πρόκληση ανάλογης έντασης και έκτασης φλεγμονής.<sup>34,35</sup>

Μετά τα ηπατοκύτταρα και τα κύτταρα του *Kupffer*, η επόμενη ομάδα κυττάρων που εμπλέκεται στην ισχαιμία και είναι η λιγότερο μελετημένη, είναι αυτή των ενδοθηλιακών κυττάρων των ηπατικών κολπώδων τριχοειδών. Είναι περισσότερο ανθεκτικά από τις δυο προηγούμενες κατηγορίες κυττάρων για μικρές (<30 λεπτά ) και ενδιάμεσες περιόδους ισχαιμίας (30-60λεπτά). Βασικές μεταβολές αφορούν την αυξημένη έκφραση των υποδοχέων *ICAM-1* και *P-Selectine* καθώς και η μείωση της έκφρασης της *eNOS* που οδηγεί σε μειωμένα επίπεδα την παραγωγή του *NO*.<sup>36-38</sup> Επίσης, σημαντικοί παράγοντες για την μειωμένη παραγωγή το *NO* είναι τα χαμηλά επίπεδα του *NADPH* (λόγω της ισχαιμίας) και της *L*-αργινίνης (λόγω αυξημένης δράσης της αργινάσης). Η απώλεια της αγγειοδιασταλτικής δράσης του *NO* αυξάνει την προφλεγμονώδη ενεργοποίηση του ενδοθηλίου και οδηγεί στην σταδιακή απώλεια των αντισυσσωρευτικών αντιθρομβωτικών ιδιοτήτων του, εκθέτοντας το ενδοθήλιο σε περαιτέρω βλάβη από την παρατεταμένη ισχαιμία και την επαναιμάτωση.<sup>38</sup>

Η έλλειψη οξυγόνου και η κατανάλωση του *ATP*, οδηγούν σε σταδιακή αύξηση της ενδοκυττάριας υποξανθίνης που προέρχεται από την αποδόμηση της αδενοσίνης του *ATP*, μετά την απόδοση της ενέργειας που είναι αποθηκευμένη και στους τρεις ενεργειακούς φωσφορικούς δεσμούς του. Η αφυδρογονάση της ξανθίνης υφίσταται πρωτεολυτική μετατροπή σε οξειδάση της ξανθίνης. Έτσι, στην επαναιμάτωση του ήπατος, παρέχεται οξυγόνο το οποίο θα χρησιμοποιηθεί ως δέκτης ηλεκτρονίων στην θέση της αναγωγικής δράσης του *NAD*. Τελικό αποτέλεσμα είναι η παραγωγή τοξικών δραστικών μορφών οξυγόνου (*Reactive Oxygen Species-ROS*) μετά την επαναιμάτωση που θα επιτείνουν την επίδραση των βλαβών, κυρίως στα ηπατοκύτταρα, στα ενδοθηλιακά κύτταρα των κολποειδών και τα κύτταρα του *Kupffer*.<sup>39,40</sup>



Οι δομικές αλλαγές που υφίστανται, από την επίδραση της ισχαιμίας, τα ενδοθηλιακά κύτταρα αφορούν την κενοδοπιώδη εκφύλιση της πυρηνικής μεμβράνης, την αύξηση του κυτταροπλασματικού υλικού και την συνολική διόγκωση του κυττάρου, με διεύρυνση των θυρίδων τους. Μέσα από αυτές τις θυρίδες και από τις μεσοενδοθηλιακές συνδέσεις προβάλλουν οι εκφυλιστικοί μεμβρανικοί σχηματισμοί των διογκωμένων ηπατοκυττάρων, που σε συνδυασμό με τα διογκωμένα ενδοθηλιακά κύτταρα προκαλούν μείωση του εύρους του τριχοειδικού αυλού, αύξηση των αγγειακών αντιστάσεων στην πυλαία λοβιακή ζώνη και διαταραχή της ηπατικής μικροκυκλοφορίας. Οι προαναφερόμενες αλλοιώσεις είναι απολύτως αναστρέψιμες για μικρής και βραχείας διάρκειας περιόδους ισχαιμίας. Αν η περίοδος της ισχαιμίας παραταθεί, τότε επέρχεται εκτός από την μηχανική στένωση και απόφραξη του τριχοειδικού αυλού, εξαιτίας της θρόμβωσης και της αγγειοσύσπασης, που οδηγούν σε στάση της ροής του αίματος, ισχαιμική ρήξη του ενδοθηλιακού τοιχώματος και δημιουργία περικολποειδικών λοβιακών αιματολιμνών. Τελικά, έρχεται σε άμεση επαφή το αίμα με τα ηπατοκύτταρα δίνοντας τη χαρακτηριστική εικόνα, μικροσκοπικά της πελίωσης και μακροσκοπικά της αιμορραγικής παρεγχυματικής διαπότισης. Οι ανωτέρω αλλοιώσεις είναι πλήρως αναστρέψιμες για βραχείες περιόδους ισχαιμίας.<sup>39</sup>

### **2.3 Βλάβες από επαναιμάτωση**

Η επαναιμάτωση που ακολουθεί την ισχαιμία, θεωρητικώς πρέπει να επαναφέρει την παροχή θρεπτικών συστατικών και οξυγόνου στους ιστούς, να συντελέσει στην απομάκρυνση των τοξικών μεταβολιτών και να αποκαταστήσει την μεταβολική ισορροπία του ισχαιμικού ιστού. Στην πραγματικότητα η επαναιμάτωση μετά από ένα κρίσιμο χρονικό διάστημα ισχαιμίας, επιτείνει αντί να αναστρέφει την έκταση των ισχαιμικών βλαβών ενώ συγχρόνως επισυσσωρεύει και άλλου τύπου βλάβες.<sup>41</sup>

Η προηγούμενη φάση της ισχαιμίας ήδη έχει προκαλέσει μορφολειτουργικές διαταραχές και προφλεγμονώδεις αλλοιώσεις, μέσω της υπερέκφρασης των μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα κύτταρα του *Kupffer*. Οι τελευταίες συνδυάζονται με το οξειδωτικό στρες,

την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (*ROS*) και την συνέχιση της φλεγμονώδους διαδικασίας, μετά την επαναιμάτωση και επιδρούν ισχυρότερα στα ηπατοκύτταρα, ενεργοποιώντας κυτταρικούς μηχανισμούς είτε προγραμματισμένου αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου (λόγω μειωμένων κυτταρικών αποθεμάτων ενέργειας και βλάβης του πυρήνα), είτε κυτταρικής νέκρωσης (λόγω σοβαρής κυτταρικής βλάβης). Οι προκαλούμενες παρεγχυματικές και τριχοειδικές βλάβες οδηγούν τελικά σε σοβαρή έκπτωση της ηπατικής λειτουργίας.<sup>41</sup>

Στη βιβλιογραφία, κυριαρχεί η άτυπη ταξινόμηση εξέλιξης των βλαβών της επαναιμάτωσης σε τρεις φάσεις. Αποτελεί άτυπη ταξινόμηση, γιατί τα όρια στην εξέλιξη των βλαβών δεν είναι ακόμα σαφώς καθορισμένα. Έτσι διακρίνονται τρεις φάσεις, η πρώιμη, η ενδιάμεση και η όψιμη. Στη πρώιμη φάση, που συνήθως χρονικά τοποθετείται στις πρώτες 6 ώρες από την έναρξη της επαναιμάτωσης, κυριαρχεί η σταδιακή αποκατάσταση της ενδοκυττάριας οξέωσης, καθώς και η συσσώρευση δραστικών μορφών οξυγόνου (*ROS*). Αυτή η μεταβολή της βιοχημικής ισορροπίας, παρά την αποκατάσταση του ενδοκυττάρου *pH*, οδηγεί σε ένα περισσότερο επιθετικό περιβάλλον για τα ηπατοκύτταρα, στην επιβάρυνση των ήδη ενεργοποιημένων ανοσολογικών μηχανισμών, στην πρόκληση φλεγμονής και στην προγραμματισμένη ενεργοποίηση του αποπτωτικού μηχανισμού, που θα εκδηλωθεί εντονότερα στις επόμενες φάσεις. Κύτταρα που ήδη έχουν υποστεί σοβαρές μορφο-λειτουργικές αλλοιώσεις, παρουσιάζουν ένδεια ενέργειας και συγχρόνως πυρηνική και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, οδηγούνται ταχύτατα σε κυτταρική νέκρωση μέσα στις πρώτες ώρες τις πρώιμης φάσης.<sup>41</sup>

Χαρακτηριστικό της πρώιμης φάσης είναι η επιδείνωση της κυτταρικής λειτουργίας, παρά την ομαλοποίηση του *pH*. Στη φάση της ισχαιμίας ο κυτταρικός μεταβολισμός, λόγω ένδειας οξυγόνου, γίνεται αναερόβιος και συγχρόνως το ενδοκυττάριο περιβάλλον των ηπατοκυττάρων, αλλά και των υπολοίπων κυττάρων του ηπατικού παρεγχύματος γίνεται οξεωτικό. Η πτώση του *pH* προκαλεί την αναστολή της δράσης των πρωτεασών και των φωσφολιπασών, προστατεύοντας κατ' αυτόν τον τρόπο το οξεωτικό

κύτταρο από την οξεία ανοξική κυτταρική ρήξη και νέκρωση. Όταν όμως επανέλθει η ιστική αιμάτωση, στα κύτταρα παρέχεται οξυγόνο και συγχρόνως το  $pH$  αποκαθίσταται στις φυσιολογικές ουδέτερες τιμές του πέριξ του 7,4. Το πρόβλημα οφείλεται στην δυσλειτουργία των *ATP* εξαρτώμενων ενεργητικών αντλιών, οι οποίες αδυνατούν να ρυθμίσουν την κλίση συγκεντρώσεων του ένδο- και εξωκυττάρου Νατρίου, με αποτέλεσμα την είσοδό του στο κύτταρο. Αυτή η εισροή νατρίου, ακολουθείται και από ανεξέλεγκτη είσοδο ασβεστίου που οδηγεί στην προενεργοποίηση των κυτταρολυτικών ενζύμων (πρωτεασών και φωσφολιπασών). Παρά την προενεργοποίησή τους, τα ένζυμα παραμένουν ανενεργά στο όξινο ενδοκυττάριο περιβάλλον, που επικρατεί κατά την ηπατική ισχαιμία.<sup>42</sup> Βασικό χαρακτηριστικό της πρώιμης φάσης επαναιμάτωσης είναι τα πολύ χαμηλά επίπεδα *NO* και οι υψηλές συγκεντρώσεις της ενδοθηλίνης, που δρα ως αγγειοσυσπαστικός παράγοντας.

Στην ενδιάμεση φάση η φλεγμονώδης αντίδραση γίνεται εντονότερη, τα ανοσιακά και τα ενδοθηλιακά κύτταρα με προεξάρχοντα τα κύτταρα του *Kupffer* υπερπαράγουν κυτταροκίνες και δραστικές μορφές οξυγόνου (*ROS*), κυρίως από τα κύτταρα του *Kupffer*, οδηγώντας αφενός μεν στην συσσώρευση λευκοκυττάρων και αφετέρου στην επιδείνωση της φλεγμονώδους αντίδρασης, που τελικά διαταράσσει σοβαρά την ηπατική λοβιακή μικροκυκλοφορία. Η απόπτωση των ηπατοκυττάρων γίνεται περισσότερο αντιληπτή επιβαρύνοντας την ηπατική λειτουργία.<sup>43</sup>

Στην όψιμη φάση τελικά, είναι δύσκολο να διακριθεί αν κυριαρχούν περισσότερο οι ανοσολογικοί ή οι φλεγμονώδεις παράγοντες, σίγουρα όμως κυριαρχεί η διήθηση με ουδετερόφιλα σχεδόν ολόκληρου του ηπατικού παρεγχύματος και η εκτεταμένη κυτταρική απόπτωση που επεκτείνεται σε όλες τις κυτταρικές σειρές του ήπατος.<sup>43</sup> Τελικά, θα προκληθούν σοβαρές κυτταρικές βλάβες ανάλογα με το χρόνο ισχαιμίας, που θα οδηγήσουν, μετά την επαναιμάτωση, στην κυτταρική λύση και την απελευθέρωση στην κυκλοφορία κυτταροπλασματικών ενζύμων, όπως η αλανινική αμινοτρανσφεράση (*ALT/SGPT*), η ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (*AST/SGOT*) και η γαλακτική αφυδρογονάση

(LDH).<sup>43,44</sup> Οι προκαλούμενες βλάβες από την επαναιμάτωση, είναι πολύ σοβαρότερες και μεγαλύτερης έκτασης από αυτές που αναμένεται να προκληθούν από την συσσώρευση στο ηπατικό παρέγχυμα των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) που παράγονται κατά τη φάση της ηπατικής ισχαιμίας.<sup>43,44</sup> Έχει δε αποδειχθεί σε πειραματικά μοντέλα, ότι η διατήρηση οξεωτικού pH μετά την επαναιμάτωση και την αποκατάσταση της κυτταρικής οξυγόνωσης, δρα προστατευτικά στην ανάπτυξη και εξέλιξη αυτών των βλαβών.<sup>44</sup> Αντίθετα, η αποκατάσταση του pH στα φυσιολογικά ουδέτερα όρια σε συνδυασμό με την αποκατάσταση της φυσιολογικής παροχής οξυγόνου δρα καταστροφικά στους επαναιματώμενους ιστούς.<sup>44</sup>

Η αποκατάσταση κυτταροπλασματικού pH στα φυσιολογικά ουδέτερα όρια του μετά την ιστική επαναιμάτωση, έχει ως επακόλουθο την εκπόλωση της μιτοχονδριακής μεμβράνης, την διαταραχή της οξειδωτικής αλύσου που είναι εγκατεστημένη στην εσωτερική επιφάνεια της και την ενεργοποίηση του ενζύμου της τριφωσφατάσης της αδενosίνης. Το τελευταίο εξαντλεί τα υπάρχοντα αποθέματα ATP, διαταράσσει την ενεργειακή ισορροπία του κυτάρου και αυξάνει τα επίπεδα της ξανθίνης, ενεργοποιώντας την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Τελικά, προκαλείται αύξηση της διαπερατότητας της μιτοχονδριακής μεμβράνης (*Mitochondrial Permeability Transition - MPT*) με διάνοιξη των πόρων της και επέρχεται η διόγκωση των μιτοχονδρίων.<sup>45</sup>

Στην επαναιμάτωση τα κύτταρα του *Kupffer*, αλλά και τα υπόλοιπα κύτταρα που υπέστησαν την βλαπτική επίδραση της ισχαιμίας, απελευθερώνουν σειρά χημικών ουσιών με συμπεριφορά χημοκινών που ενεργοποιούν

συνολικά τον ανοσολογικό μηχανισμό (κυτταρικό και συμπλήρωμα).<sup>46</sup> Τα κύτταρα του *Kupffer* επιπρόσθετα παρουσιάζουν έντονη αποκοκκίωση και έντονη φαγοκυτταρική ενεργοποίηση. Παράγουν τις δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS), προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (*TNF $\alpha$* , *IL1*, *IL8*, *IL12*, *IL23*), καθώς και αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (*IL6*, *IL10*, *IL13*) σε μια προσπάθεια εξισορρόπησης της φλεγμονώδους αντίδρασης.<sup>47-50</sup> Ενεργοποιούν τα *CD4+* T-Λεμφοκύτταρα μέσω των *GM-CSF*, *INF $\gamma$*  και *TGF $\beta$*  διεγείροντας την αύξηση της παραγωγής των *TNF $\alpha$*  και *IL1*.<sup>47-50</sup>

Τα Τ-Λεμφοκύτταρα κινητοποιούν τα ουδετερόφιλα μέσω κυτταροκινών (IL17) και χημοκινών (MIP2), ειδικά στη δεύτερη φάση της επαναιμάτωσης, ενισχύοντας την φλεγμονή. Ο φαύλος κύκλος της φλεγμονής συνεχίζει να τροφοδοτείται με συνεχή ενεργοποίηση των κυττάρων του Kupffer, όχι από την ισχαιμία αλλά από την πρωτεΐνη *HMGB1*, που παράγεται στον πυρήνα των νεκρών κύτταρων και επάγει την περαιτέρω αύξηση της παραγωγής κυτταροκινών.<sup>51-54</sup> Από την πλευρά τους οι αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες δρουν αντιαποπτωτικά σε μια ενδογενή προσπάθεια να ρυθμίσουν την υπερβολική φλεγμονώδη αντίδραση και ανάλογα με την χρονική διάρκεια της προηγηθείσας ισχαιμίας και των βλαβών που προκάλεσε επιτυγχάνουν ή αποτυγχάνουν.<sup>51,52</sup>

Στις περιοχές που επαναιματώνονται αρχίζει η συσσώρευση των ουδετερόφιλων, που ενισχύουν την φλεγμονώδη αντίδραση και το οξειδωτικό στρες. Τα κύτταρα του Kupffer συνεχίζουν την ενδοκυττάρια παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), μέσω της οξειδάσης της ξανθίνης και της οξειδάσης του *NAPDH*, που επιδρούν στα ηπατοκύτταρα και στο ενδοθήλιο των ηπατικών κολπώδων τριχοειδών.<sup>55-57</sup> Τα ουδετερόφιλα που συσσωρεύονται στις επαναιματούμενες περιοχές, απελευθερώνουν δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), που προκαλούν άμεσα βλάβη στα κύτταρα μέσω της οξειδωσης των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) λειτουργούν επίσης ως χημειοτακτικοί παράγοντες, αυξάνοντας την συσσώρευση των ουδετερόφιλων, αλλά και οδηγώντας στον σχηματισμό αραχιδονικού

οξέος, εικοσανοειδών, θρομβοξανθής (*TXA2*), λευκοτριενίων (*LTB4*) και προσταγλανδινών (*PG*) μετά από την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης *A2* (*PLA2*). Επίσης συμβάλλουν στην παραγωγή του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (*PAF*) από το ηπατικό τριχοειδικό ενδοθήλιο, που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή του υπεροξειδίου, που προάγει την φλεγμονή και την αγγειοσύσπαση.<sup>50,58,59</sup> Τα μεγάλα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα παρουσιάζουν διττό ρόλο. Από τη μια ως αντιγονο-παρουσιαστικά προς τα Τ-Λεμφοκύτταρα, επαυξάνοντας την φλεγμονώδη αντίδραση με αυξημένη παραγωγή προφλεγμονωδών

κυτταροκινών και από την άλλη εξελισσόμενα σε μυοϊνοβλάστες παράγοντας προϊνωτικούς παράγοντες.<sup>60,61</sup>

Η κλασική οδός του συμπληρώματος, όπως προκύπτει από νεότερες μελέτες, ενεργοποιείται από νεοαντιγόνα που σχηματίζονται στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων του ήπατος, σε συνθήκες ισχαιμίας, υπό την επίδραση *IgM* ανοσοσφαιρινών που παράγονται από Β-λεμφοκύτταρα.<sup>60,62</sup> Η ενεργοποίηση της κλασικής οδού του συμπληρώματος μέσω των κλασμάτων *C3a* και *C5a*, προκαλεί διέγερση και χημειοταξία για τα ουδετερόφιλα εντείνοντας την φλεγμονή και την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών.<sup>58</sup> Το κλάσμα *C5a* του συμπληρώματος ενεργοποιεί τα κύτταρα του Kupffer προς παραγωγή υπεροξειδίου.<sup>63</sup> Το κλάσμα του συμπληρώματος *C5bC9*, αφενός εμποδίζει την χάλαση του αγγειακού τοιχώματος αυξάνοντας τις αγγειακές αντιστάσεις και αφετέρου ενισχύει την έκφραση των μορίων προσκόλλησης (*ICAM1*, *VCAM1*, *E*- και *P*-σελεκτίνης).<sup>58,64</sup>

Τα ενεργοποιημένα πολυμορφοπύρρηνα αλληλοεπιδρούν, αρχικά μέσω των σελεκτινών (*E* και *P*) και του *ICAM1* με το ηπατικό τριχοειδικό ενδοθήλιο και στη συνέχεια με διαπίδυση, μέσω των χασματικών συνδέσεων των ενδοθηλιακών κυττάρων, εξέρχονται στον διάμεσο χώρο του Disse χρησιμοποιώντας το μόρια προσκόλλησης *PECAM1*.<sup>47,65</sup> Στον διάμεσο χώρο τα πολυμορφοπύρρηνα απελευθερώνουν σειρά πρωτεολυτικών ενζύμων (πρωτεάσες και ελαστάσες), ενώ συγχρόνως

παράγουν και δραστικές μορφές οξυγόνου (*ROS*) με την βοήθεια των υπεροξειδασών των αζουρόφιλων κοκκίων. Αζουρόφιλα κοκκία ανευρίσκονται, στα μονοπύρρηνα που προσκολλώνται στο ηπατικό τριχοειδικό ενδοθήλιο, στα ουδετερόφιλα που διέρχονται χημειοτακτικά προς το ηπατικό παρέγχυμα μετά από επαναιμάτωση, αλλά και στα κύτταρα του Kupffer, όπως και στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα ιστικά μακροφάγα των ηπατικών κοιλώδων τριχοειδών. Χαρακτηριστικό ένζυμο που περιέχεται στα αζουρόφιλα κοκκία είναι η μυελοϋπεροξειδάση, που οδηγεί στη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (κύρια

υποχλωριώδες οξύ) και λειτουργεί σαν προφλεγμονώδης παράγοντας.<sup>47, 57,58,66,67</sup>

Τελικό αποτέλεσμα των παραπάνω μηχανισμών είναι η καταστροφή της υποενδοθηλιακής στοιβάδας, διαταράσσοντας τη διαπερατότητα του αγγειακού ενδοθηλίου και συνολικά του αγγειακού τοιχώματος, ενώ συγχρόνως η φλεγμονή επεκτείνεται πλέον και στα παρεγχυματικά κύτταρα, επιδεινώνοντας αρχικά την υπάρχουσα ισχαιμική δυσλειτουργία τους και οδηγώντας τα στην καταστροφή.<sup>47,57,66</sup> Μετά την επαναιμάτωση του ηπατικού παρεγχύματος (ήδη από την πρώτη ώρα), δημιουργείται εξωκυττάριο περιβάλλον πλούσιο σε ασβέστιο και φωσφολιπίδια. Ασβέστιο προερχόμενο από την λειτουργική διαταραχή των *ATP*-εξαρτώμενων αντλιών και φωσφολιπίδια από την άμεση κυτταρική διάρρηξη των ηπατοκυττάρων με σοβαρή ισχαιμική βλάβη. Τα προηγούμενα, σε συνδυασμό με την ενεργοποίηση των προθρομβωτικών έναντι των αντιθρομβωτικών παραγόντων, με κυριαρχία του ιστικού παράγοντα, του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (*PAF*), του αναστολέα του ενεργοποίησης του πλασμινογόνου (*PAI*) και του παράγοντα *von Willebrand* (*vWD*), οδηγούν με την σειρά τους στην ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης. Με την ενεργοποίηση του μηχανισμού σχηματίζεται θρομβίνη, ενεργοποιούνται τα αιμοπετάλια και προάγεται η έκφραση της *P*-σελεκτίνης στο ηπατικό ενδοθήλιο. Η *P*-σελεκτίνη ευνοεί την προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο και την επίταση της φλεγμονής ενεργοποιώντας περισσότερο τα ουδετερόφιλα. Τα τελευταία προκαλούν την διάσπαση του ενδοθηλίου, οδηγώντας στην έκθεση του κολλαγόνου της υποενδοθηλιακής στοιβάδας και προκαλώντας επιπλέον ενεργοποίηση του ιστικού παράγοντα και επίταση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Τελικά, παρατηρείται μια συνδυαστική υπερτροφοδότηση των μηχανισμών της πήξης και της φλεγμονής, που οδηγεί στην πρόκληση μικροθρομβώσεων στην ηπατική τριχοειδική μικροκυκλοφορία.<sup>50,68</sup>

Δεν είναι όμως, μόνο ο μηχανισμός της πήξης που διαταράσσει το ενδοθήλιο. Σειρά μηχανισμών και παραγόντων ενεργοποιούνται, σε

εξάρτηση πάντα από την χρονική διάρκεια της ισχαιμίας. Αμέσως μετά την επαναιμάτωση, η έκκριση της ενδοθηλίνης από τα ηπατικά ενδοθηλιακά και τα αστεροειδή κύτταρα διπλασιάζεται με σύγχρονη υπερέκφραση των επιφανειακών υποδοχέων της (*ETA1* και *ETB2*). Τα αστεροειδή κύτταρα συγχρόνως εξελίσσονται σε μυοϊνοβλάστες στο υπο-ενδοθηλιακό στρώμα, που λόγω φλεγμονής συσπώνεται ανεξέλεγκτα μειώνοντας των αγγειακό αυλό.<sup>69</sup> Ενώ τα ανοσολογικά κύτταρα παράγουν λόγω φλεγμονής θρομβοξάνη *A2* (*TXA2*).<sup>69</sup> Το ερέθισμα που υφίστανται τα ενδοθηλιακά κύτταρα επιφέρει ισχυρά αγγειοσυσπαστικό αποτέλεσμα, διαταράσσοντας τον αγγειακό τόνο.<sup>70-72</sup>

Οι εκκρινόμενοι αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες (προστακυκλίνη *I<sub>2</sub>*, αδενοσίνη και *NO*) αδυνατούν να αντιμετωπίσουν την ένταση της δράσης των αγγειοσυσπαστικών παραγόντων, ακόμα και αν η παραγωγή τους είναι φυσιολογική ή και αυξημένη. Στην φάση της επαναιμάτωσης, δυστυχώς, οι αγγειοδιασταλτικοί μηχανισμοί δρουν μόνοι, ενώ η αγγειοδιαστολή που προκαλούν, τουλάχιστον στην πρώτη φάση της επαναιμάτωσης, παρέχει το απαραίτητο οξυγόνο στα οξειδωτικά ένζυμα, που έχουν προενεργοποιηθεί κατά την ισχαιμία και ενεργοποιούνται στην φάση της ουδετεροποίησης του ενδοκυττάρου *pH*, για την παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου (*ROS*) και την επέκταση της φλεγμονής.<sup>69,73</sup>

Το *NO* αποτελεί τον σημαντικότερο αγγειοδιασταλτικό και αντιαποπρωτικό παράγοντα για το ήπαρ. Παρόλη τη σημασία του, τα υπάρχοντα δεδομένα για την παραγωγή και τη δράση του *NO*, κυρίως για την φάση της ισχαιμίας αλλά και κατά την πρώτη φάση της επαναιμάτωσης είναι εξαιρετικά περιορισμένα. Το *NO* διαχέεται ελεύθερα από την κυτταρική, την πυρηνική και την μιτοχονδριακή μεμβράνη ασκώντας ανάλογα με την συνθετάση που επάγει την παραγωγή του προστατευτική (*eNOS*) ή βλαπτική επίδραση (*iNOS*). Με την έναρξη της ηπατικής ισχαιμίας, τα ενδοθηλιακά κύτταρα στα πέντε πρώτα λεπτά αυξάνουν την παραγωγή της *eNOS*, προκειμένου να αυξηθεί το *NO* και με την αγγειοδιαστολή να επιτύχουν την αποκατάσταση της ιστικής κυκλοφορίας. Η μέγιστη παραγωγή επιτυγχάνεται στα πρώτα δεκαπέντε λεπτά από την έναρξη της ισχαιμίας.



Η αγγειοδιαστολή που προκαλείται σε αυτή την ισχαιμική φάση περιλαμβάνει τα προκολποειδικά και τα κολποειδή ηπατολοβιακά αγγεία.<sup>74-76</sup>

Σταδιακά, η εξάντληση των υπάρχοντων αποθεμάτων *ATP* επιφέρει την μείωση της παραγωγής του *NO*, ήδη μετά τα πρώτα δεκαπέντε λεπτά από την έναρξη της ισχαιμίας. Η μειωμένη παραγωγή συνεχίζεται και στη φάση της επαναιμάτωσης, με αποτέλεσμα να ανεπαρκεί ο τοπικός αγγειοδιασταλτικός μηχανισμός, αυξάνοντας σημαντικά τις κυτταρικές βλάβες.<sup>77</sup> Η συμπλοκή των δυο συνθετασών του *NO* (ενδοθηλιακή *eNOS* και επαγόμενη *iNOS*) περιπλέκει την εξήγηση της δράσης του *NO*, μιας και είναι αρκετά δύσκολο να εκτιμηθεί η ενεργοποίηση και η επίδραση καθεμιάς από τις συνθετάσες μετά την επαναιμάτωση και το ποσοστό που της αναλογεί στην παραγωγή του τελικού προϊόντος. Το *NO*, που παράγεται μέσω της *eNOS*, αναστέλλει την επίδραση των κασπασών (*Caspase 3* και *Caspase 9*) αποτρέποντας την κυτταρική απόπτωση.<sup>78-80</sup>

Μετά όμως την επαναιμάτωση, το *NO* είναι μειωμένο και λόγω μειωμένης παραγωγής, αλλά και λόγω μετατροπής του σε υπεροξυ-νιτρικές ρίζες ( $\cdot NO_3$ ) από την επίδραση της περίσσειας των ελευθέρων δραστικών ριζών οξυγόνου.<sup>81</sup> Η υπεροξειδωση των λιπαρών οξέων και των τριγλυκεριδίων της μιτοχονδριακής μεμβράνης οδηγεί στην αδρανοποίηση της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων, επάγοντας την ενεργοποίηση της S-νιτροζυλίωσης, που σε συνθήκες οξειδωτικού stress και έκθεσης σε *NO* οδηγεί στην παραγωγή νιτρικής τυροσίνης.<sup>82</sup> Η νιτρική τυροσίνη αποτελεί ένα από τους παράγοντες επαγωγής του αποπτωτικού θανάτου και αξιόπιστο δείκτη της βλάβης από οξειδωτικό stress.<sup>78,83,84</sup> Η *iNOS* ξεκινά να υπερεκφράζεται, εξαιτίας της φλεγμονής και του οξειδωτικού stress, στα κύτταρα του ηπατικού παρεγχύματος μετά την πρώτη ώρα από την επαναιμάτωση και ακόμα δεν έχει διερευνηθεί αν αποτελεί βλαπτικό παράγοντα για το ήπαρ ή εξισορροπητικό μηχανισμό, εξαιτίας της υπερπαραγωγής *NO* από την υπερενεργοποίηση της *eNOS* και την επερχόμενη βλάβη από την υπερπροσφορά οξυγόνου στα ισχαιμικά ηπατοκύτταρα.<sup>85</sup>

Τοπογραφικά, η *iNOS* παρουσιάζει υπερέκφραση στην Ζώνη III (κεντρολοβιώδης) του ηπατικού λοβίου με αποτέλεσμα οι μεγαλύτερες βλάβες να εμφανίζονται νωρίτερα και να είναι εντονότερες σε αυτή την περιοχή, δεδομένου ότι εξαιτίας της αγγειοσύσπασης δεν υπάρχει ικανοποιητική αιματική ροή, ώστε η αιμοσφαιρίνη να αποκαθαίρει την περίσσεια του NO. Αντίθετα, στις πυλαίες περιοχές της Ζώνης I επικρατεί η *eNOS*, δείχνοντας μικρότερη ευαισθησία στις βλάβες από την επαναιμάτωση. Τέλος, η Ζώνη II αποτελεί την μεταβατική περιοχή, που η έκταση των βλαβών εξαρτάται από την χρονική διάρκεια της ισχαιμίας και την ένταση της φλεγμονώδους αντίδρασης, ειδικά σε συνδυασμό με τη ζώνη III.<sup>41, 43, 86</sup>

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, με την αποκατάσταση της κυκλοφορίας και την επαναιμάτωση του ηπατικού παρεγχύματος, μετά από παρατεταμένη έκθεση σε ισχαιμία (>45-90 λεπτών), οι υπάρχουσες βλάβες που αναπτύχθηκαν στην ισχαιμική φάση αντί να υποστρέφουν ή και να παραμένουν σταθερές, συνεχίζουν να εξελίσσονται. Σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η διαταραχή της κυκλοφορίας στο ηπατικό λόβιο, όπου επιδρούν όλοι οι μηχανισμοί που προαναφέρθηκαν, προκαλώντας μείωση του εύρους του αγγειακού αυλού, αγγειοσύσπαση και θρόμβωση από την συσσώρευση των αιμοπεταλίων και την ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης. Ουσιαστικά, παρατηρείται μη αναστρέψιμη διαταραχή της ηπατολοβιακής μικροκυκλοφορίας, παρά την αποκατάσταση της κυκλοφορίας στα πυλαία και μεσολόβια αγγεία.<sup>87</sup>

#### **2.4 Είδη κυτταρικού θανάτου μετά από βλάβες ισχαιμίας-επαναιμάτωσης**

Τα ισχαιμικά κύτταρα, μετά την επίδραση της επαναιμάτωσης, παρουσιάζουν σειρά βλαβών που κυμαίνονται από πλήρως αναστρέψιμες έως μη αναστρέψιμες. Οι τελευταίες, ανάλογα με τους μηχανισμούς που έχουν ενεργοποιηθεί, μπορεί να οδηγήσουν σε διαφορετικούς τύπους κυτταρικού θανάτου. Κάθε ένας έχει διαφορετικά χαρακτηριστικά, διαφορετικό μηχανισμό ενεργοποίησης, διαφορετικό χρόνο επέλευσης και διαφορετικό τελικό αποτέλεσμα. Το κύτταρο μπορεί τελικά να λυθεί και να

απελευθερωθούν τα κυτταροπλασματικά και πυρηνικά συστατικά του, μπορεί όμως να μη λυθεί και με ακέραια την κυτταρική μεμβράνη να απορροφηθεί από γειτονικά κύτταρα ή να φαγοκυτταρωθεί. Βασικοί τύποι κυτταρικού θανάτου είναι η απόπτωση, η νέκρωση, η νεκρόπτωση και η πυρόπτωση ή αυτοφαγικός θάνατος.<sup>88</sup>

#### **2.4.1 Απόπτωση**

Πρόκειται για τη διαδικασία προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, που πραγματοποιείται με τη βοήθεια κυτταρικών μηχανισμών που απαιτούν κατανάλωση ενέργειας. Πρόκειται για κυτταρικό μοντέλο προγραμματισμένης συμπεριφοράς, που ενεργοποιείται και λαμβάνει χώρα με τη βοήθεια συγκεκριμένων μηχανισμών, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες και έχει ιδιαίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά. Αποτελεί έναν από τους βασικότερους ομοιοστατικούς μηχανισμούς, με σκοπό την διατήρηση της ισορροπίας του κυτταρικού πληθυσμού και την έγκαιρη απομάκρυνση των γερασμένων και παθολογικών κυττάρων. Υπολογίζεται δε, ότι το 99.5-99.9% των κυττάρων ανανεώνεται φυσιολογικά με τον μηχανισμό της απόπτωσης. Αποτελεί ουσιαστικά το βασικό αμυντικό μηχανισμό που καθαίρει τον οργανισμό από επιβλαβή νεοπλασματικά κύτταρα και από κύτταρα που έχουν υποστεί την επίθεση του ανοσοποιητικού μηχανισμού ή αλλογενών παραγόντων (ιών, βακτηρίων) και θέτουν σε κίνδυνο την επιβίωση.<sup>88-93</sup> Στα αρχικά στάδια της ενεργοποίησης του κυτταρικού προγραμματισμένου θανάτου μέσω της απόπτωσης, παρατηρείται η κυτταρική πύκνωση, η οποία οφείλεται στην κυτταροπλασματική πύκνωση και συρρίκνωση, με σύγχρονη συσπείρωση του κυτταροσκελετού. Αντίστοιχη συμπύκνωση και περιθωριοποίηση παρατηρείται και στη χρωματίνη του πυρήνα.<sup>88,89</sup> Σταδιακά, η κυτταρική μεμβράνη δημιουργεί προεκβολές που περιέχουν τμήματα του κυτταροπλάσματος, ενώ ο πυρήνας υφίσταται ρήξη εντός του κυτταροπλάσματος. Τελικά, δημιουργούνται από τις προεκβολές της κυτταρικής μεμβράνης τα αποπτωτικά σωμάτια, τα οποία περιβάλλονται από τμήμα της κυτταρικής μεμβράνης και περιέχουν κυτταρόπλασμα με διάφορα οργανίδια και τμήμα από τον ραγέντα πυρήνα. Τελικά, χωρίς να

προκληθεί φλεγμονώδης αντίδραση και γενικότερα καμία συστηματική ή τοπική αντίδραση, τα αποπτωτικά σωμάτια θα φαγοκυτταρωθούν από τα μακροφάγα, μέσα στα φαγολυσοσώματα. Η εκλεκτική φαγοκυττάρωση των αποπτωτικών σωματίων, χωρίς την ενεργοποίηση και τη γενίκευση του μηχανισμού της φλεγμονής, οφείλεται στην εξωτερίκευση της φωσφατιδυλσερίνης, στοιχείου της κυτταρικής μεμβράνης, υπό την επίδραση της caspase 3, και στην αναγνώρισή της από τα φαγοκύτταρα.<sup>88-92</sup> Αυτή η προγραμματισμένη κυτταρική κατάτμηση, στην οποία τα κυτταρικά συστατικά δεν απελευθερώνονται στον μεσοκυττάριο χώρο και δεν προκαλούν επαγωγή προφλεγμονωδών ουσιών και χημειοταξία ουδετερόφιλων, προστατεύει την ομοιοστασία του οργανισμού και αποτρέπει την ανάπτυξη ακραίων φαινομένων που διαταράσσουν τη ισορροπία, όπως όταν συμβαίνει με την κυτταρική νέκρωση και ρήξη.<sup>88-92</sup>

Η απόπτωση πραγματοποιείται μέσω ενός πολύπλοκου μηχανισμού ενεργοποίησης μορίων, που τελικά καταλήγει στην διάσπαση του πυρηνικού *DNA*, στην αποσυναρμολόγηση του κυτταροσκελετού, στην αποδόμηση των πρωτεϊνών και στη δημιουργία των αποπτωτικών σωματίων που θα φαγοκυτταρωθούν από τα μακροφάγα. Στην βιβλιογραφία περιγράφονται τρεις μηχανισμοί διάσπασης του πυρηνικού *DNA*, δυο από αυτούς (ενδογενής και εξωγενής μηχανισμός) καταλήγουν στην ενεργοποίηση της caspase 3, ενώ ο τρίτος παράγει την πρωτεΐνη *granzyme A*. Τόσο η caspase 3 όσο και η *granzyme A*, προκαλούν βλάβη στο *DNA*.<sup>88-95</sup>

Ο εξωγενής μηχανισμός ενεργοποιείται μέσω των διαμεμβρανικών υποδοχέων του παράγοντα *TNF* (*TNFR*). Στο εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα *TNF*, υπάρχει ειδική ζώνη σύνδεσης που ενεργοποιεί το μονοπάτι του αποπτωτικού θανάτου. Το καλύτερα μελετημένο δίδυμο μόριου συνδέτη και υποδοχέα του εξωγενούς μηχανισμού της απόπτωσης είναι αυτά του *TNF-a/ TNFR*, που οδηγεί στην παραγωγή της πρωτεΐνης *TRADD*, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί την caspase 8, αυτή με τη σειρά της ενεργοποιεί την caspase 3, που θα δράσει βλαπτικά στο γενετικό υλικό του πυρήνα και θα ξεκινήσει η διαδικασία της απόπτωσης.

Ο ενδογενής μηχανισμός ενεργοποιείται ενδοκυττάρια από την επίδραση διαφόρων παραγόντων (ισχαιμία, ανοξία, υπερθερμία, ακτινοβολία κ.α.) στην μιτοχονδριακή μεμβράνη, της οποίας μεταβάλλουν το δυναμικό και την διαπερατότητα, οδηγώντας στην έξοδο οξειδωτικών ενζύμων και κυρίως του κυτοχρώματος c. Τελικά ενεργοποιείται ο παράγοντας *Araf-1* και η *caspase 9*, που θα ενεργοποιήσουν την *caspase 3* και αυτή θα οδηγήσει στην ενεργοποίηση της απόπτωσης. Οι *caspases* οδηγούν στην ενεργοποίηση των ενδονουκλεασών (*CAD*) που κατατέμνουν το πυρηνικό υλικό και πρωτεασών που διασπών τις πυρηνικές πρωτεΐνες μαζί με τον κυτταροσκελετό, οδηγώντας στη δημιουργία των αποπτωτικών σωματίων. Ο μηχανισμός της πρωτεΐνης granzyme A, προκαλεί απευθείας την διάσπαση του πυρηνικού υλικού και την ενεργοποίηση του αποπτωτικού θανάτου.<sup>88-96</sup>

#### **2.4.2 Νέκρωση**

Η νέκρωση αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό οξέος θανάτου μετά από παρατεταμένη ισχαιμία. Δεν απαιτεί κατανάλωση ενέργειας ή ενεργοποίηση κάποιου ειδικού μηχανισμού. Το κύτταρο μετά την παρέμβαση του εξωτερικού παράγοντα (ισχαιμία) οδηγείται σε εξάντληση των ενεργειακών του αποθεμάτων, αδυνατεί να διατηρήσει την ομοιοστασία του και ακολουθεί η αύξηση της διαπερατότητας της κυτταροπλασματικής και μιτοχονδριακής μεμβράνης. Επέρχεται διόγκωση του κυττάρου, μιτοχονδριακό οίδημα και κυτταρική διάρρηξη με απελευθέρωση του κυτταρικού υλικού, των ενζύμων, των ROS και των κυτταρικών οργανιδίων που οδηγούν στην τοπική και συστηματική ανοσολογική απάντηση, στην φλεγμονή και στην απελευθέρωση κυτταροκινών.<sup>96,97,98</sup>

#### **2.4.3 Νεκρόπτωση**

Μηχανισμός προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου μετά από ισχαιμία και επαναιμάτωση, ο οποίος σε αντιδιαστολή με την απόπτωση, ενεργοποιεί έντονα τον ανοσολογικό μηχανισμό. Στο συγκεκριμένο μηχανισμό δεν συμμετέχει η *caspase 3*, αλλά η *caspase 8* μέσω

ενεργοποίησης των πρωτεϊνικών κινασών 1 και 3 (*RIPK1/RIPK3*). Μορφολογικά διαταράσσεται η μιτοχονδριακή διαπερατότητα και το κύτταρο διασπάται σε νεκροαποπτωτικά σωματίδια, τα οποία επάγουν την φλεγμονή και ενεργοποιούν την κυτταρική και χυμική ανοσία.<sup>98,99,100</sup>

#### **2.4.4 Πυρόπτωση**

Επίσης μηχανισμός προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, που επάγεται μέσω του συμπλέγματος της ομόλογης πρωτεΐνης *C/EBP* και της *caspase 11*, με τελικό προϊόν την *caspase 1*. Η τελευταία ενεργοποιεί τον κυτταρικό θάνατο και συγχρόνως οδηγεί στην παραγωγή και απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταρικών ουσιών, που επάγουν επίσης φλεγμονώδη αντίδραση.<sup>97,100</sup>

#### **2.4.5 Αυτοφαγικός θάνατος**

Τα κύτταρα μπορούν να προγραμματίσουν τον θάνατό τους, διατηρώντας τις μεταβολικές τους διεργασίες και χωρίς να προκαλούν φλεγμονώδη ή άλλη ανοσολογική αντίδραση. Μετά από ισχαιμικό τραυματισμό και ισχαιμία – επαναιμάτωση τα ηπατοκύτταρα αναπτύσσουν αυτοφαγικές ιδιότητες, ενεργοποιώντας την αποικοδόμηση των κυτταρικών συστατικών και εγκλείοντάς τα σε αυτοφαγοσωμάτια, δηλαδή σε σωματίδια με διπλή κυτταρική μεμβράνη. Με αυτόν τον τρόπο το ηπατοκύτταρο μπορεί να συνεχίσει να επιβιώνει για ένα χρονικό διάστημα, δίνοντας τη δυνατότητα στο ήπαρ να αναγεννηθεί. Παραμένει όμως ακόμα άγνωστο, αν ο μηχανισμός του αυτοφαγικού θανάτου σε ηπατικές βλάβες μετά από ισχαιμία επαναιμάτωση, αποτελεί προστατευτικό ή βλαπτικό μηχανισμό. Πολύ πιθανόν να εξαρτάται από τη διάρκεια της ισχαιμίας και τον συνδυασμό του με την απόπτωση και την νέκρωση.<sup>101-104</sup>

### **2.5 Χειρισμός Ισχαιμικής προετοιμασίας ως προφύλαξη από τη βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης**

Η βλάβη από ισχαιμία – επαναιμάτωση και η ανάπτυξη σοβαρής ηπατικής δυσλειτουργίας ή και ανεπάρκειας μετά από μείζονες επεμβάσεις και

μεταμοσχεύσεις στο ήπαρ, οδήγησαν στην μελέτη διαφόρων χειρισμών που μπορεί να ασκήσουν προφυλακτική επίδραση. Ο πρώτος επιτυχημένος χειρισμός που περιεγράφηκε το 1986 για το μυοκάρδιο (Murrey και συν.) αναφέρεται διεθνώς στην βιβλιογραφία ως ισχαιμική προετοιμασία (*ischemic preconditioning*).<sup>105</sup> Αφορά την πραγματοποίηση μηχανικά πολύ μικρών περιόδων ισχαιμίας στο όργανο που πρόκειται να υποστεί παρατεταμένη ισχαιμία με ανάπτυξη μάλλον μη αναστρέψιμων βλαβών του τύπου ισχαιμίας-επαναιμάτωσης.<sup>105</sup> Ο μηχανικός χειρισμός της ισχαιμικής προετοιμασίας (ή ισχαιμικής προγύμνασης - *IPC*) αποτελεί έναν ισχυρό προστατευτικό μηχανισμό που μπορεί να ελέγξει την φλεγμονή και να περιορίσει σημαντικά την έκταση της ισχαιμικής βλάβης στο ηπατικό παρέγχυμα.<sup>105</sup>

Ο συγκεκριμένος χειρισμός χρησιμοποιήθηκε έκτοτε για την μελέτη ισχαιμικής προετοιμασίας (*IPC*), πριν την έκθεση σε παρατεταμένη ισχαιμία και επαναιμάτωση κι άλλων οργάνων. Σε αρκετές περιπτώσεις μελετών, έχει χρησιμοποιηθεί ο μηχανικός χειρισμός παροδικού αγγειακού αποκλεισμού σε συνδυασμό με φαρμακευτικούς χειρισμούς, ενώ περιγράφονται και μόνο φαρμακευτικοί χειρισμοί προετοιμασίας (*preconditioning*) που αφορούν την επαγωγική προετοιμασία του οργάνου που θα υποβληθεί σε ισχαιμία. Από την μέχρι σήμερα βιβλιογραφία, προκύπτει ωφέλεια ανάλογα με το είδος του ιστού, τη διάρκεια της ισχαιμικής φάσης και την ένταση της φλεγμονής και του οξειδωτικού *stress* μετά την επαναιμάτωση.<sup>106</sup> Ειδικά για το ήπαρ, έχει μελετηθεί ιδιαίτερα η μηχανική ισχαιμική προετοιμασία με ισχαιμική προγύμναση (*IPC*) του παρεγχύματος, με μικρής διάρκειας (5 έως 20 λεπτών) διαλείπουσες ισχαιμίες, ακολουθούμενες από επαναιμάτωση (10 έως 30 λεπτών).<sup>85</sup>

Η μηχανική ισχαιμική προετοιμασία (*IPC*) παρουσιάζει δυο φάσεις επίδρασης στην ισχαιμία και την επαναιμάτωση. Την πρώιμη φάση με έναρξη σχεδόν αμέσως μετά τον χειρισμό *IPC* και διάρκεια 2-4 ώρες και την όψιμη φάση που ξεκινά 12-24 ώρες μετά τον χειρισμό *IPC* και διαρκεί για 2-3 ημέρες. Στην πρώιμη φάση ο χειρισμός *IPC* παρέχει ισχυρή προστασία στο ηπατικό παρέγχυμα και αναστέλλει την ενεργοποίηση και

τη συσσώρευση των ουδετερόφιλων, μειώνοντας την ένταση της φλεγμονής. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της ομαλής λειτουργίας της αντλίας καλίου και της αντλίας του ασβεστίου, προστατεύοντας τα κύτταρα και τα μιτοχόνδρια από την οξέωση και την υπερφόρτωση σε ασβέστιο. Τα προηγούμενα επιτυγχάνονται μέσω της επαγωγής της φωσφοκινάσης της 5'νουκλεοσιδάσης στην κυτταρική επιφάνεια, που οδηγεί στην αύξηση της παραγωγής αδενοσίνης, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο τα ενεργειακά αποθέματα σε *ATP*, ενώ συγχρόνως αναστέλλει την ενεργοποίηση του ουδετεροφιλικού μηχανισμού της φλεγμονής.<sup>107, 108</sup>

Στην όψιμη φάση επίδρασης, που ξεκινά συνήθως 12-24 ώρες μετά τον πρώτο χειρισμό *IPC*, το ηπατοκύτταρο αναπτύσσει μια προσαρμοστική διαδικασία παραγωγής πρωτεϊνών, μέσω γονιδιακής έκφρασης. Κάποιες από αυτές δύνανται να λειτουργήσουν προστατευτικά έναντι του οξειδωτικού stress της επαναιμάτωσης, ως αντιοξειδωτικά ένζυμα (δισμουτάση του υπεροξειδίου, καταλάση και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης). Άλλες αποτελούν ενεργοποιημένες κινάσες που ενεργοποιούν με τη σειρά τους το μεταγραφικό παράγοντα *NFκB*, που δρα στον πυρήνα ενεργοποιώντας γονίδια που προστατεύουν από την επαγόμενη φλεγμονώδη αντίδραση μετά από ισχαιμία και μειώνουν την παραγωγή της *iNOS*. Επίσης, οι υπάρχουσες μελέτες καταδεικνύουν την αύξηση της *eNOS* και του παραγόμενου εξ αυτής αγγειοδιασταλτικού *NO*, 12-24 ώρες μετά την ισχαιμική ηπατική προγύμναση που φθάνει στη μέγιστη παραγωγή 24 ώρες μετά από την ισχαιμία και την επαναιμάτωση.<sup>110, 111</sup> Η αύξηση του *NO* μειώνει την ένταση του οξειδωτικού stress και της φλεγμονώδους αντίδρασης (μείωση της επαγόμενης χημειοταξίας, της συσσώρευσης και προσκόλλησης των λευκοκυττάρων). Τέλος, παράγονται πρωτεΐνες του θερμικού shock (*Heat Shock Proteins-HSPs*), που προστατεύουν την δομή και δράση βασικών κυτταρικών και πυρηνικών πρωτεϊνών, εξασφαλίζοντας τη δομική και μεταβολική ομοιοστασία του κυττάρου.<sup>107-113</sup>



Επίσης, ηπατική ισχαιμική προετοιμασία έχει πραγματοποιηθεί με χορήγηση χημικών και φαρμακευτικών παραγόντων (πρωτοξειδίου του αζώτου, *L*-αργινίνης, ερυθροποιητίνης, νιτρικού νατρίου, πολυαιθυλενογλυκόλης, ανταγωνιστών της σελεκτίνης, αναστολείς της αδενυλ-κυκλάσης, αναστολείς της τυροσινικής κινάσης, αναστολείς των διαύλων ασβεστίου, νικοτινικής ακετυλοχολίνης, σιρόλιμους/ανοσοκατασταλτικών, απιγενίνης, αδενοσίνης, γλουταθειόνης, ισοφλουρανίου, σεβοφλουρανίου, σιμβαστατίνης, αναστολέων της *NOX*<sub>2</sub>, σιλδεναφίλης, αντιοξειδωτικών παραγόντων, κ.α.) που δρουν σε διαφορετικά βιοχημικά μονοπάτια του κυτταρικού μεταβολισμού. Βασικοί στόχοι είναι η προετοιμασία ενεργειακά του ηπατοκυττάρου (π.χ. αυξάνοντας τα προΐσχαιμικά επίπεδα του *ATP* ή μειώνοντας την κατανάλωσή του κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης) και η μείωση του οξειδωτικού *stress* και της φλεγμονής.<sup>36,106-121</sup> Τα κυριότερα μονοπάτια που ενισχύουν οι φαρμακευτικοί/χημικοί παράγοντες αφορούν την αύξηση των επιπέδων του *NO* (προκαλώντας αγγειοδιαστολή), την αύξηση της ανθεκτικότητας στην ισχαιμία, τη μείωση της επίδρασης του οξειδωτικού *stress* και την καταστολή της φλεγμονώδους αντίδρασης (μέσω καταστολής των δενδριτικών κυττάρων, των *TLRs*, του *PAF*, της *ισταμίνης*, του *TNFα*, της λευκοτριένης *B*<sub>4</sub> και της οδού του συμπληρώματος).<sup>107-113</sup>

Συνοπτικά, η ισχαιμική προετοιμασία του ήπατος κατ' αρχήν εξασκεί τα παρεγχυματικά κύτταρα ώστε να καταστούν ανθεκτικότερα και να επιβιώσουν της ισχαιμικής προσβολής και της επακόλουθης βλάβης επαναιμάτωσης, ενώ τα προετοιμάζει για την ταχύτερη αντίδρασή τους και την αποδοτικότερη αναγέννηση τους, κυρίως μετά από ηπατεκτομές και τμηματικής ηπατικές βλάβες.<sup>42-44</sup> Επιδρά στα ανοσιακά κύτταρα του ήπατος, ώστε να είναι λιγότερο ευαίσθητα στην εκδήλωση της προφλεγμονώδους διαδικασίας κατά την ισχαιμία και να αναπτύξουν μικρότερης έντασης ανοσολογική και οξειδωτική αντίδραση κατά την επαναιμάτωση. Τέλος, προετοιμάζει την αγγειακή μικροκυκλοφορία με πληθώρα αγγειοδιασταλτικών παραγόντων, με σκοπό να υποστεί την μικρότερη δυνατή ισχαιμική βλάβη και να ανακάμψει άμεσα στη φάση της

επαναιμάτωσης. Όλα βέβαια τα προηγούμενα μέσα σε λογικά πλαίσια διάρκειας της ηπατικής ισχαιμίας. Είναι δεδομένο ότι μετά τα 90 λεπτά οι ηπατικές βλάβες είναι πλέον μη αναστρέψιμες. Τα βιοχημικά μόρια που επάγονται, κατά κύριο λόγο μετά την ισχαιμική προετοιμασία του ήπατος, είναι η αδενοσίνη, το *ATP* και το *NO*.<sup>85,107-120</sup>

Η αδενοσίνη αποτελεί πουρινικό νουκλεοτίδιο, απαραίτητο για την σύνθεση του *DNA* αλλά και του *ATP*. Η παραγωγή της ενεργοποιείται από τον υποδοχέα *A<sub>2a</sub>R* μέσω της *PKA*.<sup>85</sup> Η αδενοσίνη προέρχεται από την διάσπαση του *ATP* από τις εκτονουκλεάσες (*CD<sub>39</sub>*, *CD<sub>73</sub>*) κατά την ισχαιμική φάση και συνεχίζει έως εξαντλήσεως των αποθεμάτων του στην φάση της επαναιμάτωσης.<sup>120,121</sup> Στην μηχανική ισχαιμική ηπατική προγύμναση, αλλά και σε άλλες μεθόδους ισχαιμικής προετοιμασίας έχει χρησιμοποιηθεί με ευνοϊκά αποτελέσματα, μειώνοντας την έκταση της ισχαιμικής βλάβης αλλά και την επίδραση του οξειδωτικού *stress*, τόσο στην ισχαιμία όσο και στην επαναιμάτωση.<sup>121-126</sup>

Το απόθεμα του *ATP* αποτελεί βασικό παράγοντα για την επιβίωση των ηπατοκυττάρων, τόσο στην ισχαιμία όσο και στην επαναιμάτωση. Αυτό που αποτελεί περιοριστικό παράγοντα είναι το παρεχόμενο οξυγόνο στην επαναιμάτωση και η παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου (*ROS*).<sup>127-128</sup> Τέλος, το *NO* αποτελεί προϊόν των χειρισμών της ισχαιμικής προετοιμασίας και συμβάλει σημαντικά στην επιβίωση των ηπατοκυττάρων μετά από παρατεταμένη ισχαιμία και επαναιμάτωση.<sup>129,130</sup> Το *NO* οδηγεί στη σύνθεση της *PI3K*, που αποτελεί τον ενεργοποιητικό παράγοντα για πολλά βιολογικά κυτταρικά μονοπάτια. Τα σημαντικότερα είναι, οι αντιαποπτωτικοί μηχανισμοί (σύμπλεγμα *PI3K/Akt*, *MAPK/ERK*, φωσφολιπάση *C* και πρωτεϊνική κινάση *C*), ο προστατευτικός μηχανισμός στην κυτταρική ανοξία (*HIF<sub>1</sub>*) και η ενεργοποίηση των μιτογόνων παραγόντων (*p38 MAPK*, *NF-κB*, *STAT3*) για την ταχύτερη ηπατική αναγέννηση.<sup>30,49,51, 85,113,116,125,128.131-133</sup>

Οι χειρισμοί της ισχαιμικής προετοιμασίας του ήπατος, οδηγούν στην προενεργοποίηση και την πλήρη λειτουργική ενεργοποίηση, κατά την ισχαιμία και την πρώτη φάσης της επαναιμάτωσης, μηχανισμών

προστασίας του κυττάρου και των μιτοχονδρίων. Χαρακτηριστικά, η ενεργοποίηση των *ERK*<sub>1-2</sub> και εν συνεχεία της *PI3K*, οδηγούν στην σταθεροποίηση της κυτταρικής μεμβράνης και στην αποκατάσταση του *pH*, έχοντας αποκαταστήσει την φυσιολογική λειτουργία των *ATP*-εξαρτώμενων αντλιών και αποκαθιστώντας συγχρόνως την παθολογική συγκέντρωση του ενδοκυττάρου νατρίου.<sup>65</sup> Με την ισχαιμική προετοιμασία, η ενεργοποίηση της *cGMP*-εξαρτώμενης-κινάσης, οδηγεί στην αποκατάσταση της λειτουργίας των καλίο-ευαίσθητων αντλιών της μιτοχονδριακής μεμβράνης, αποκαθιστά την ουδετερότητα του μιτοχονδριακού *pH* και τελικά οδηγεί στην αποκατάσταση της παθολογικής μιτοχονδριακής διαπερατότητας (*MPT*).<sup>45, 107,108,133</sup>

Οι παραπάνω μηχανισμοί οδηγούν στην ενεργοποίηση των πυρηνικών διεργασιών (ενεργοποίηση της  $\beta$ 1-κυκλίνης) για τον πολλαπλασιασμό και την ταχύτερη αναγέννηση των ηπατοκυττάρων, παρά την υπάρχουσα υποξία. Η ενεργοποίηση από την τελευταία των αντίστοιχων επαγόμενων προστατευτικών μηχανισμών (*HIF*<sub>1</sub>), οδηγεί στη παραγωγή πρωτεϊνικών προστατευτικών μακρομορίων (γλυκολυτικών ενζύμων) που οδηγούν στην αύξηση της παραγωγής *ATP* και στον περιορισμό της έντασης του οξειδωτικού stress.<sup>85</sup> Από τους μιτογόνους παράγοντες, ο *NF-κB* μπορεί να επιδρά είτε βλαπτικά (ενεργοποιώντας τη φλεγμονή και την απόπτωση) ή ευεργετικά (ως αντιφλεγμονώδης και αντιαποπτωτικός παράγοντας), ανάλογα με τα ενεργειακά αποθέματα του κυττάρου, την οξυγόνωση και τη διάρκεια της ισχαιμίας. Τελικά, η ισχαιμική προετοιμασία παρέχει την μέγιστη προστασία στο ηπατοκύτταρο, με μόνο ανεξάρτητο επιβαρυντικό παράγοντα την διάρκεια της ισχαιμίας.<sup>85</sup>

Ειδικότερα, η μηχανική ισχαιμική προγύμναση με μικρές περιόδους ισχαιμίας που ακολουθούνται από επαναιμάτωση, παρέχει ανοχή από την ηπατοκυτταρική βλάβη στην φάση της παρατεταμένης ισχαιμίας και την ιστικής ανοξίας, αποτρέποντας την πρόωμη ενεργοποίηση της φλεγμονής και του αποπτωτικού μηχανισμού, ενώ στην φάση της επαναιμάτωσης, εμποδίζει την υπερβολική ενεργοποίηση του ανοσολογικού μηχανισμού της φλεγμονής, μειώνοντας την παραγωγή κυτταροκινών, από τα

ενδοθηλιακά κολπώδη κύτταρα και τα κύτταρα του Kupffer.<sup>134-136</sup> Συμπερασματικά, με την ισχαιμική προετοιμασία το ηπατοκύτταρο αποκτά ανθεκτικότερο μεταβολικό προφίλ, παράγει και συσσωρεύει μεγαλύτερα ποσά *ATP*, ρυθμίζει ομαλότερα τις μεταβολές του *pH* κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας και με την σταθεροποίηση των *ATP*-εξαρτώμενων αντλιών παρουσιάζει υψηλότερη αντοχή στην ουδετεροποίηση του *pH* στην επαναιμάτωση.<sup>135, 136</sup> Η επίδραση των ενεργών δραστικών ριζών οξυγόνου και του οξειδωτικού stress είναι λιγότερο βλαπτική, η ηπατολοβιακή μικροκυκλοφορία σημαντικά βελτιωμένη, τόσο στην ισχαιμία όσο και στην επαναιμάτωση, ενώ η ανοσολογική απάντηση αρκετά προβλέψιμη και αναστρέψιμη, εφόσον η διάρκεια της ισχαιμίας δεν έχει προκαλέσει βαριά οξεία ηπατοκυτταρική νέκρωση και κυτταρική λύση.<sup>50</sup>

## 3. ΛΙΠΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ

### 3.1 Εισαγωγή

Η λιπώδης νόσος του ήπατος (Fatty Liver Disease - FLD) περιλαμβάνει ένα εκτεταμένο φάσμα κλινικο-παθολογοανατομικών καταστάσεων, που οφείλονται κατά κύριο λόγο στην παθολογική συγκέντρωση λιπιδίων (κυρίως τριγλυκερίδιων – lipid droplets) εντός του κυτταροπλάσματος του ηπατοκυττάρου, οδηγώντας στην παθολογοανατομική εμφάνιση της ηπατικής στεάτωσης. Είναι γνωστή από την δεκαετία 1960, όμως είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη με τάσεις αύξησης της επίπτωσης και του επιπολασμού της στο σύγχρονο ανεπτυγμένο κόσμο μετά το 1990.<sup>137,138</sup> Η FLD εξελισσόμενη επάγει την εμφάνιση φλεγμονώδους αντίδρασης, οδηγώντας στην πρόκληση στεατοηπατίτιδας, που μπορεί να καταλήξει σε κατά τόπους νέκρωση του ηπατικού παρεγχύματος.<sup>139</sup> Η παθολογοανατομική εξέλιξη, οδηγεί στην ανάπτυξη ηπατικής ίνωσης στις θέσεις της ηπατοκυτταρικής νέκρωσης και τελικά στην κίρρωση και στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο.<sup>138-142</sup> Μικροσκοπικά, οι κυτταροπλασματικές φυσαλίδες των λιπιδίων μοιάζουν με άμορφες, κυκλικού σχήματος αθροίσεις και ανάλογα με το μέγεθός τους διακρίνονται σε μικρές και μεγάλες φυσαλίδες (κενοτόπια) και αντίστοιχα ανάλογα με το είδος των φυσαλίδων που υπερέχουν στο ηπατικό παρέγχυμα, η ηπατική στεάτωση διακρίνεται σε μικροφυσαλιδώδη ή μικροκενοτοπιώδη, σε μακροφυσαλιδώδη ή μακροκενοτοπιώδη και σε μικτή (*Εικόνες 5,6,7*).<sup>142,143</sup>

Η ακριβής αιτιολογία της ηπατικής στεάτωσης δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί και βρίσκεται υπό διερεύνηση.<sup>144</sup> Η FLD πιστεύεται ότι συνδέεται με το μεταβολικό σύνδρομο, την ινσουλινοαντοχή και την υπερλιπιδαιμία.<sup>142-145</sup> Μεταξύ των προδιαθεσικών παραγόντων ανήκουν οι διαιτητικές συνήθειες, η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II, ο αλκοολισμός και η ηπατίτιδα που επάγουν την αντίσταση στην ινσουλίνη, ενώ αναφέρονται περιπτώσεις ιδιοπαθούς FLD.<sup>144, 146-150</sup> Η διάγνωση της FLD απαιτεί την τεκμηρίωση της ηπατικής στεάτωσης (ιστολογικά ή

απεικονιστικά) με αποκλεισμό των τοξικών βλαβών (αλκοολισμός, λήψη φαρμάκων) και των κληρονομικών παθήσεων.<sup>142</sup> Αρχικά, η απλή στεάτωση χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση κυτταροπλασματικών σταγονιδίων τριγλυκεριδίων σε ποσοστό μεγαλύτερο από το 5% των ηπατοκυττάρων.<sup>141-143</sup> Το πρόβλημα που συνεχίζει να υφίσταται είναι η σχέση της απλής στεάτωσης με την στεατοηπατίτιδα. Δεν είναι ξεκάθαρο εάν η στεατοηπατίτιδα είναι, εξελικτικό επακόλουθο μιας συνεχώς επιβαρυνόμενης ηπατικής στεάτωσης, ή εάν αποτελούν δυο ξεχωριστές παθολογοανατομικές και κλινικές οντότητες που έχουν πιθανώς κοινή προέλευση. Η στεατοηπατίτιδα χαρακτηρίζεται από την ηπατική φλεγμονή και την εναπόθεση κολλαγόνου σε περιοχές νέκρωσης και αντικατάστασης των ηπατοκυττάρων από ουλώδη (ινώδη) συνδετικό ιστό. Η τελική εξέλιξη της στεατοηπατίτιδας είναι η κίρρωση του ήπατος και ο ηπατοκυτταρικός καρκίνος.<sup>138,142</sup>

### **3.2 Επιδημιολογικά δεδομένα**

Η FLD αποτελεί την συχνότερα εμφανιζόμενη ηπατική νόσο στον ανεπτυγμένο κόσμο.<sup>141</sup> Ο επιπολασμός της εξαρτάται από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και τις συνήθειες του κάθε πληθυσμού, προσβάλλει δε όλες τις ηλικιακές ομάδες αδιακρίτως, ακόμα και τα παιδιά.<sup>145</sup> Παγκοσμίως υπολογίζεται σε 6-30% συνολικά για την ηπατική στεάτωση και 3-5% για την στεατοηπατίτιδα.<sup>151</sup> Στον ανεπτυγμένο κόσμο υπολογίζεται σε 20-30% του γενικού πληθυσμού, ενώ στον πληθυσμό των παχύσαρκων προσεγγίζει το 75-95%.<sup>144,152-154</sup> Ανευρίσκεται ως τυχαίο νεκροτομικό εύρημα σε ποσοστό 6-25%.<sup>146,155,156</sup> Στην Ελλάδα εκτιμάται ο επιπολασμός της FLD στο 31.3%, με τα 2/5 αυτών των ασθενών να εκδηλώνουν στεατοηπατίτιδα.<sup>159</sup> Τα συγκεκριμένα ποσοστά είναι από τα υψηλότερα παγκοσμίως και ειδικά το ποσοστό της στεατοηπατίτιδας φαίνεται να είναι τουλάχιστον 6 φορές μεγαλύτερο από τον υπόλοιπο κόσμο.<sup>141,144,157</sup>

### **3.3 Παράγοντες Κινδύνου**

Ο συχνότερος προδιαθεσικός παράγοντας για την FLD θεωρείται η παχυσαρκία, στην οποία ο επιπολασμός κυμαίνεται από 75-95%, με τον

υψηλότερο επιπολασμό 95% να αφορά τα νοσογόνα παχύσαρκα άτομα, τα οποία εμφανίζουν και τις συχνότερες επιπλοκές.<sup>30</sup> Υπάρχουν μελέτες που αναδεικνύουν τη σημασία της σπλαγγχνικής σημασίας κατανομής του λίπους σε σχέση με την σωματική κατανομή.<sup>158,159</sup>

Η FLD παρουσιάζει συσχέτιση με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, την ινσουλινοαντοχή, την υπερλιπιδαιμία, την υπερχοληστερολαιμία και το μεταβολικό σύνδρομο.<sup>160-162</sup> Ο κίνδυνος εξέλιξης σε στεατοηπατίτιδα είναι μεγαλύτερος, όσο περισσότερες είναι οι μεταβολικές διαταραχές. Συνήθως, στους ασθενείς συνυπάρχουν δυο ή και περισσότεροι παράγοντες κινδύνου.<sup>160-162</sup> Η ταχύτητα εξέλιξης της FLD από απλή ηπατική στεάτωση σε στεατοηπατίτιδα, σχετίζεται ισχυρά με τον βαθμό της ινσουλινοαντοχής.<sup>163,164</sup> Γενικά οι καταστάσεις που προδιαθέτουν στην εμφάνιση ηπατικής στεάτωσης και στην εξέλιξή της σε στεατοηπατίτιδα είναι πολλές.<sup>142,165-172</sup>

Ενδεικτικά αναφέρονται ο αλκοολισμός, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, η ηπατίτιδα C, οι λιποδυστροφίες, η συγγενής αβηταλιποπρωτεϊναιμία, η ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, η νόσος του Wilson, η νόσος Weber – Christian, η κυστική ίνωση, η κύηση, οι μεταβολικές διαταραχές (υποθυρεοειδισμός, γαλακτοζαιμία, τυροσιναιμία, συγγενής δυσανεξία στη φρουκτόζη, κυστινουρία), τα φάρμακα (ταμοξιφαίνη, κορτικοστεροειδή, μεθοτρεξάτη, αμιοδαρόνη), οι χημικές ουσίες (παράγωγα πετρελαίου, κοκαΐνη, διμεθυλοφορμαλίδη, βαλπροϊκό οξύ), το σύνδρομο Reye, η ολική παρεντερική διατροφή, καθώς και οι χειρουργικές επεμβάσεις για νοσογόνο παχυσαρκία (Ειλεονησιτιδική παράκαμψη).<sup>142,158-172</sup> Επίσης, γενετικοί παράγοντες πιστεύεται ότι σχετίζονται με την ηπατική στεάτωση και την ταχύτερη εξέλιξή της σε στεατοηπατίτιδα σε ποσοστό 39% και αποδίδονται σε γονιδιακούς πολυμορφισμούς.<sup>173</sup>

### **3.4 Παθογένεση της Ηπατικής Στεάτωσης**

Έχουν διατυπωθεί διάφορες υποθέσεις για την εξήγηση της FLD και κυρίως για την εξέλιξη της απλής στεάτωσης σε στεατοηπατίτιδα. Η

εμφάνιση της ηπατικής στεάτωσης οφείλεται στην διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ παραγωγής και κατανάλωσης των λιπαρών οξέων. Τα λιπαρά οξέα στο ήπαρ χρησιμοποιούνται με τρεις διαφορετικούς τρόπους. Μπορούν να οξειδωθούν στα μιτοχόνδρια παράγοντας ενέργεια και κετονοσώματα, να εστεροποιηθούν με τη μορφή των τριγλυκεριδίων και να αποθηκευτούν ως λιπιδικές σταγόνες στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων, ή να ενωθούν με απολιποπρωτεΐνες και να απεκκριθούν ως λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL).<sup>174-176</sup>

Η συσσώρευση όμως λιπαρών οξέων και χοληστερόλης, ειδικά στα μιτοχόνδρια, προκαλεί τοξική βλάβη σε αυτά με την απελευθέρωση ελεύθερων δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS), ενεργοποίηση του μηχανισμού της φλεγμονώδους αντίδρασης και της απόπτωσης (απελευθέρωση του παράγοντα νέκρωσης όγκων – TNFα), καθώς και σημαντική οξειδωτική επιβάρυνση του ενδοπλασματικού δικτύου, που το καθιστά ανίκανο να ανταποκριθεί στην αναβολική του λειτουργία.<sup>174-176</sup>

Η νεότερη άποψη που αφορά την παθολογική εξέλιξη της στεάτωσης σε στεατοηπατίτιδα χαρακτηρίζεται, ως «υπόθεση των πολλαπλών παράλληλων χτυπημάτων». Αντικείμενο δε ιδιαίτερης διερεύνησης, είναι η πιθανότητα η ηπατική φλεγμονή να προϋπάρχει της συσσώρευσης των λιπιδίων στο ηπατοκύτταρο, ή τουλάχιστον η στεάτωση και η φλεγμονή να ξεκινούν μαζί, επί ενός παθολογικού γενετικού υποστρώματος υπό την επίδραση περισσότερων του ενός προδιαθεσικών παραγόντων.<sup>177,178</sup> Η ινσουλίνη διαδραματίζει το βασικότερο ρόλο στον μεταβολισμό των βασικών θρεπτικών υποστρωμάτων και επίσης το σημαντικότερο στην πρόκληση της ηπατικής στεάτωσης. Μεταφέρει τη γλυκόζη ενδοκυττάρια, κύρια στα μυϊκά κύτταρα και τα λιποκύτταρα, προκειμένου να παραχθεί ενέργεια, να σχηματισθούν λιπαρά οξέα και να συντεθούν χοληστερόλη και τριγλυκερίδια. Η αύξηση του ενδοκυττάριου λίπους, υπό τη επίδραση της ινσουλίνης επάγει την ινσουλινοαντοχή.<sup>142</sup>

Μεταγευματικά η ινσουλίνη αυξάνει απότομα, οδηγώντας σε κατακόρυφη αύξηση της κυτταρικής πρόσληψης γλυκόζης, στον μυϊκό και λιπώδη ιστό, ενώ συγχρόνως προάγει την λιπογένεση εις βάρος της λιπόλυσης.<sup>165,166</sup> Η



ινσουλίνη επιδρώντας στο ηπατοκύτταρο αυξάνει την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα της δεσμευτικής πρωτεΐνης I του ρυθμιστικού παράγοντα της στερόλης (SREBP – I) προκαλώντας την αυξημένη παραγωγή λιπιδίων.<sup>165</sup> Η ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη προκαλεί ένδεια γλυκόζης και ενέργειας στον ενδοκυττάριο μεταβολισμό, με αποτέλεσμα την επίταση της λιπόλυσης και την απελευθέρωση λιπαρών οξέων ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια. Τα παραπάνω, κινητοποιούν τα κοκκία γλυκογόνου στο ήπαρ και την νεογλυκογένεση στον μυϊκό ιστό, με τελικό αποτέλεσμα την υπεργλυκαιμία.<sup>167</sup> Η αδυναμία χρήσης της γλυκόζης παρά τη υπερινσουλιναίμια, οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή λιπαρών οξέων στο ήπαρ. Σε κάθε περίπτωση το ηπατοκύτταρο κατακλύζεται κυριολεκτικά από λιπαρά οξέα, τα οποία εστεροποιούνται σε τριγλυκερίδια. Το ήπαρ αδυνατεί να διασπάσει με τη β-οξείδωση τα συνεχώς αθροιζόμενα τριγλυκερίδια στα μιτοχόνδρια, στα υπεροξεισωμάτια και στο μικροσωμιακό σύστημα του ενδοπλασματικού δικτύου (CYP2E1 και CYP4A).

Ειδικά στα μιτοχόνδρια, που αποτελούν και τους βασικούς σταθμούς παραγωγής ενέργειας και πρωτεϊνοσύνθεσης, το τελικό αποτέλεσμα είναι η συσσώρευση των τριγλυκεριδίων εντός αυτών, με επακόλουθο την δυσλειτουργία και την διόγκωσή τους (μεγαμιτοχόνδρια). Όμως, εκτός του ότι οι δυνατότητες του ηπατοκυττάρου για αποθήκευση τριγλυκεριδίων είναι πεπερασμένες, το ίδιο πεπερασμένη είναι και η ικανότητά τους να τα απελευθερώσουν στο αίμα συνδεδεμένα με πρωτεΐνες, σαν πολύ χαμηλού μοριακού βάρους λιποπρωτεΐνες (Very Low Density Lipoproteins, VLDL).<sup>166,168</sup> Τελικώς, τα τριγλυκερίδια υπερ-συσσωρευόμενα αποθηκεύονται στο κυτταρόπλασμα του ηπατοκυττάρου με τη μορφή σταγονιδίων λίπους και προκαλώντας ηπατική στεάτωση.<sup>168</sup>

Από τις υπάρχουσες μελέτες προκύπτει ότι ο λιπώδης ιστός αποτελεί σημαντικό ενδοκρινικό και ανοσολογικό όργανο, που επηρεάζει συνολικά τον οργανισμό και ιδιαίτερα το ήπαρ. Με την παραγωγή ενεργών διαμεσολαβητών, κυρίως κυτταροκινών και αδιποκινών, επενεργεί στην μεταβολική λειτουργία του ήπατος. Ειδικά, η αδιπονεκτίνη ενεργοποιεί την

β-οξειδωση των λιπαρών οξέων και των τριγλυκεριδίων ο TNFα ασκώντας αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ η λεπτίνη περιορίζει την συσσώρευση των λιπιδίων και διατηρεί την ηπατοκυτταρική κυτταροπλασματική ισορροπία.<sup>179</sup> Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-6 και TNFα, επιδρούν στο ήπαρ στα πλαίσια της φλεγμονώδους αντίδρασης συμβάλλοντας με τη σειρά τους στο μηχανισμό του πολλαπλού χτυπήματος. Ιδιαίτερη είναι η σημασία της επίδρασης τους σε περιπτώσεις όπου το ήπαρ με στεάτωση εκτίθεται σε ισχαιμία.

Η έκθεση στο οξειδωτικό stress του ενδοπλασματικού δικτύου δημιουργεί ποικιλία διαταραχών. Χαρακτηριστικά, το ενδοπλασματικό δίκτυο αποτελεί την παραγωγικότερη μονάδα του ηπατοκυττάρου, όπου συντίθενται πρωτεΐνες απαραίτητες για την ομοίωση, την ενδοκρινική λειτουργία και την άμυνα όλου του οργανισμού. Το ηπατοκύτταρο από την πλευρά του κατέχει τους υψηλότερους ρυθμούς ημερήσιας παραγωγής πρωτεϊνών για τον οργανισμό, είναι λοιπόν εύκολο να διαταραχθεί η ενεργειακή του υποστήριξη και να δημιουργηθούν συνθήκες παθολογικής εναπόθεσης λιπιδίων στο κυτταρόπλασμα του.<sup>144,176,178</sup>

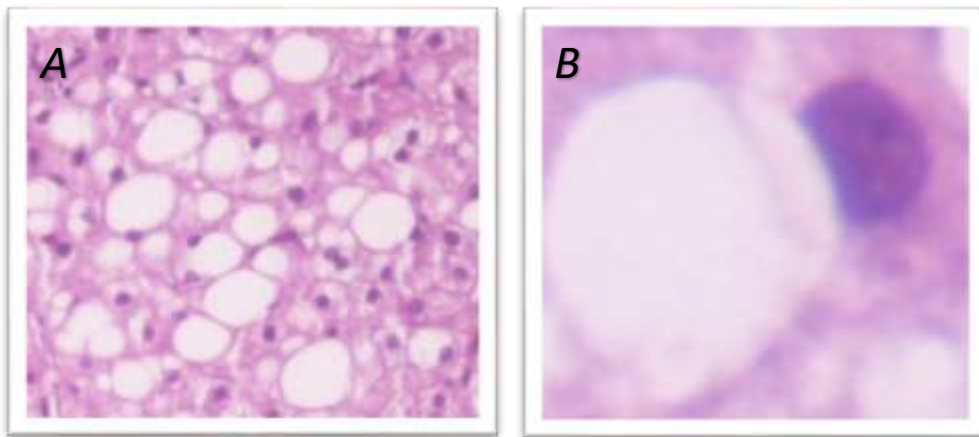
### 3.5 Ιστολογική Ταξινόμηση

Από το μέγεθος των λιπιδικών σταγονιδίων, η στεάτωση διακρίνεται σε:

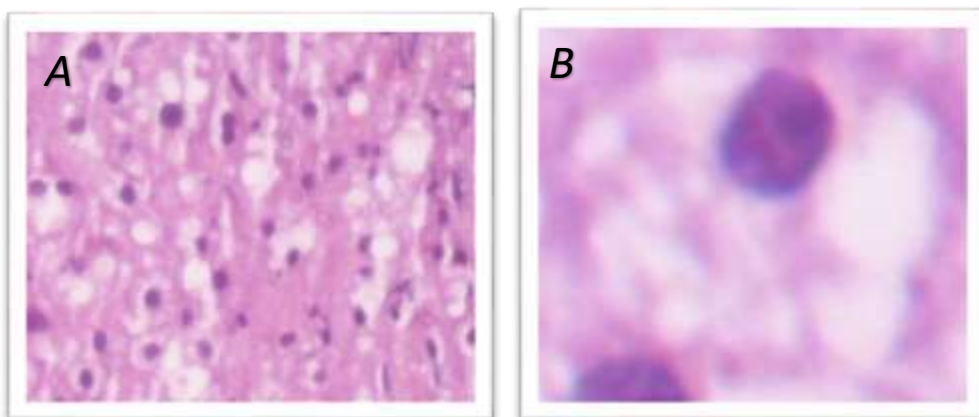
- Μακροκενοτοπιώδης (μακροφυσσαλιδώδης)
- Μικροκενοτοπιώδης (μικροφυσσαλιδώδης)
- Μικτή

Η συγκεκριμένη ταξινόμηση έχει και κλινικό αντίκτυπο, μιας και η μακροφυσσαλιδώδης στεάτωση προκαλεί σοβαρή ηπατοκυτταρική δυσλειτουργία, λόγω μιτοχονδριακής βλάβης. Η μακροκενοτοπιώδης (μακροφυσσαλιδώδης) στεάτωση χαρακτηρίζεται με την παρουσία ενός ή περισσοτέρων μεγάλων λιπιδικών κενοτοπίων στο κυτταρόπλασμα που παρεκτοπίζουν τον πυρήνα είναι όμως σαφώς ευδιάκριτα (*Εικόνα 3*).<sup>139</sup> Στην μικροκενοτοπιώδη (μικροφυσσαλιδώδη) στεάτωση το κυτταρόπλασμα του ηπατοκυττάρου έχει αφρώδη εμφάνιση, χωρίς

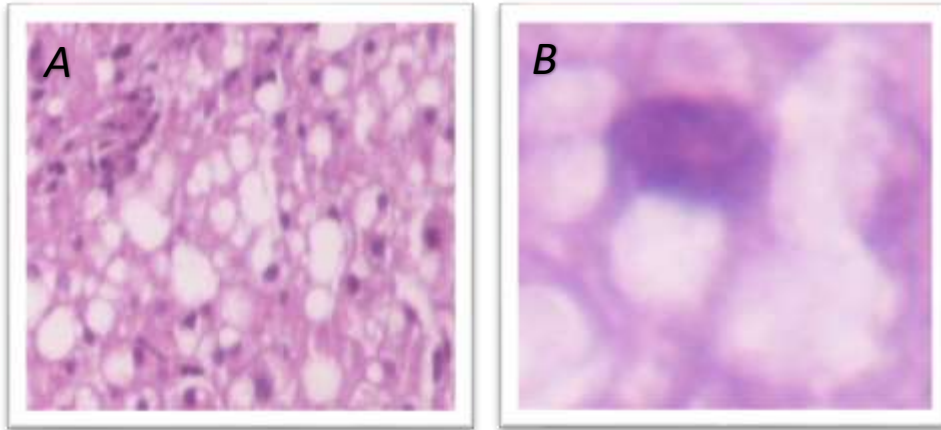
παρεκτόπιση του πυρήνα (*Εικόνα 4*). Συνήθως όμως, οι ιστολογικές διαταραχές στην στεάτωση είναι μικτού τύπου, με παρουσία, μικρών και μεγάλων λιπιδικών κενотоπίων στο κυτταρόπλασμα (*Εικόνα 5*). Η λιπώδης διήθηση, συνήθως ξεκινά από τη ζώνη III (κεντρολοβιακή περιοχή) και επεκτείνεται καταλαμβάνοντας ολόκληρο το ηπατικό λόβιο.<sup>139,180-184</sup>



*Εικόνα 3. Μακροκενοτοπιώδης λιπώδης εκφύλιση του ηπατικού παρεγχύματος (A) και του ηπατοκυττάρου (B)*



*Εικόνα 4. Μακροκενοτοπιώδης λιπώδης εκφύλιση του ηπατικού παρεγχύματος (A) και του ηπατοκυττάρου (B).*



**Εικόνα 5.** Μικτή λιπώδης διήθηση του ηπατικού παρεγχύματος (A) και του ηπατοκυττάρου (B)

Για την εκτίμηση της ηπατικής στεάτωσης δεν υπάρχουν συγκεκριμένα ιστολογικά κριτήρια, γι' αυτό εκτιμάται με ημιποσοτική μέθοδο, κατατάσσοντας την λιπώδη διήθηση οπτικά σε τρεις ομάδες βαρύτητας.<sup>139,140,180-182</sup> Οι ομάδες κατάταξης της βαρύτητας της ηπατικής λιπώδους διήθησης είναι:

**Μικρής:** <33% του ηπατικού παρεγχύματος παρουσιάζει λιπώδη διήθηση,

**Μέτριας:** 33-66% του ηπατικού παρεγχύματος παρουσιάζει λιπώδης διήθηση

**Σοβαρής:** > 66% του ηπατικού παρεγχύματος παρουσιάζει λιπώδη διήθηση

Η στεατοηπατίτιδα χαρακτηρίζεται από την παρουσία στεάτωσης, λοβιακής φλεγμονώδους δραστηριότητας, ηπατικής νέκρωσης και πιθανώς ίνωσης. Η στεάτωση, η φλεγμονή και η νέκρωση καθορίζουν την ένταση και την δραστηριότητα της στεατοηπατίτιδας, ενώ η ίνωση καθορίζει μοναδικά και σταθερά το εξελικτικό στάδιο της νόσου. Η δραστηριότητα χαρακτηρίζεται ως:

**Ήπια:** παρουσία κυρίως μακροκενοτοπιώδους στεάτωσης ( <33% ή 33-66% των λοβίων) στη Ζώνη III (κεντρολοβιακά), ήπια ηπατοκυτταρική διόγκωση στη Ζώνη III, ήπια-διάσπαρτη οξεία λοβιακή φλεγμονή με

πολυμορφοπυρηνική διήθηση και χρόνια φλεγμονή με μονοπύρηννα κύτταρα. Ίσως ήπια περιπυλαία φλεγμονή

**Μέτρια:** παρουσία μικτής στεάτωσης, οιοσδήποτε έκτασης (<33%, 33-66%, >66%), λοβιακή φλεγμονή με ιδιαίτερα μεγάλη ηπατοκυτταρική διόγκωση στην Ζώνη III, ήπια έως μέτρια φλεγμονή στη ζώνη I. Διάχυτη πολυμορφοπυρηνική διήθηση και ενίοτε ήπια χρόνια φλεγμονή, εξοιδημένα ηπατοκύτταρα, περικυτταρική ίνωση και ενίοτε ήπια χρόνια φλεγμονή, στο ηπατικό λόβιο

**Σοβαρή:** η στεάτωση καταλαμβάνει >66% των ηπατικών λοβίων και είναι κατά κύριο λόγο συνήθως μικτή, παρατηρείται έντονη ηπατοκυτταρική διόγκωση στη Ζώνη III, διάσπαρτη οξεία και χρόνια λοβιακή φλεγμονή με συγκέντρωση πολυμορφοπυρήνων στις περιοχές ηπατοκυτταρικής διόγκωσης και περικυτταρικής ίνωσης της Ζώνης III. Ήπια ή μέτρια περιπυλαία φλεγμονή.

Η παρουσία ίνωσης χαρακτηρίζεται από τα παρακάτω στάδια:

**Στάδιο 1:** περικολποειδική/περικυτταρική εστιακή ή εκτεταμένη ίνωση στη Ζώνη III (κεντρολοβιακά)

**Στάδιο 2:** περικολποειδική/περικυτταρική εστιακή ή εκτεταμένη ίνωση στη Ζώνη III και στη Ζώνη I (κεντρολοβιακά και περιπυλαία)

**Στάδιο 3:** γεφυροποιός ίνωση, εστιακή ή εκτεταμένη σε όλο το ηπατικό λόβιο

**Στάδιο 4:** κίρρωση του ήπατος

Κανένα από τα προηγούμενα ταξινομητικά χαρακτηριστικά δεν αποτελεί ιδιαίτερο παθολογοανατομικό γνώρισμα για την στεατοηπατίτιδα. Απαραίτητα ιστολογικά ευρήματα που συμβάλλουν στην επιβεβαίωση της στεατοηπατίτιδας είναι η παρουσία ηπατικής στεάτωσης, λοβιακής φλεγμονής, αεροσφαιροειδούς εκφύλισης (ballooning) και νέκρωσης των

ηπατοκυττάρων με ανάπτυξη ίνωσης. Μπορεί να συνυπάρχουν κεντρολοβιακή περικολποειδική ίνωση στη κεντρολοβιακή Ζώνη III, πυρήνες γλυκογόνου στην περιπυλαία Ζώνη I, διάχυτα λιποκοκκιώματα στο ηπατικό λόβιο, υαλίνη του Mallory με ηπατοκυτταρική αεροσφαιροειδή εκφύλιση, αυξημένη εναπόθεση κοκκίων σιδήρου στα ηπατοκύτταρα και στα κύτταρα του Kupffer, καθώς και μεγαμιτοχόνδρια στα κύτταρα του ηπατικού παρεγχύματος.<sup>180-184</sup>

Η στεάτωση ανάλογα με την βαρύτητά της συσχετίζεται με ανάπτυξη ίνωσης και ηπατικής ανεπάρκειας. Η παρουσία λίπους και ινσουλινοαντοχής αποτελεί τον αρχικό παράγοντα για την ενεργοποίηση της ίνωσης στο ηπατικό παρέγχυμα. Στη συνέχεια, η απελευθέρωση των κυτταροκινών σε συνδυασμό με το οξειδωτικό stress, οδηγούν στην υπεροξειδωση των λιπιδίων και στην ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων του ήπατος προς αυξημένη παραγωγή και εναπόθεση κολλαγόνου, με τελικό αποτέλεσμα την πρόκληση ίνωσης.<sup>183,184</sup> Οι σημαντικότεροι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη χρόνιας ινώδους βλάβης και ηπατικής ανεπάρκειας είναι η διάρκεια, η βαρύτητα και η σταδιακή επιδείνωση της στεάτωσης, η εμφάνιση στεατοηπατίτιδας με σοβαρή φλεγμονή και εκτεταμένη νέκρωση, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II και ο αλκοολισμός.<sup>139,184</sup>

### **3.6 Ηπατεκτομή σε ήπαρ με στεάτωση**

Οι μείζονες επεμβάσεις στο ήπαρ έχουν αυξηθεί τα τελευταία χρόνια με σημαντική μείωση της νοσηρότητας και της θνητότητας, λόγω σημαντικής βελτίωσης της περιεγχειρητικής φροντίδας, αλλά και των χειρουργικών τεχνικών. Αντίθετα όμως, η παρουσία λιπώδους ηπατικής διήθησης και ηπατικής στεάτωσης, συνοδεύεται με αυξημένα ποσοστά επιπλοκών, κίνδυνο σοβαρής ηπατικής ανεπάρκειας και υψηλή θνητότητα μετά από μείζονες επεμβάσεις στο ήπαρ. Η ηπατική στεάτωση δε, αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την αρνητική έκβαση μιας επέμβασης στο ήπαρ.<sup>156,185-186</sup>

Βασική διαταραχή που επιβαρύνει περισσότερο την ανάνηψη μετά από μείζονα επέμβαση, είναι η μειωμένη αναγεννητική ικανότητα του ήπατος με στεάτωση μετά την βλάβη που θα υποστεί, αρχικά από την ισχαιμία και εν συνεχεία από την επαναιμάτωση. Και στο ήπαρ με στεάτωση πραγματοποιούνται ισχαιμικοί χειρισμοί (π.χ. *Pringle*) με σκοπό να μειώσουν την σοβαρή απώλεια αίματος. Τα ηπατοκύτταρα όμως, αδυνατούν να ανταπεξέλθουν στις νέες συνθήκες, τα μιτοχόνδρια μετά την επίδραση της ισχαιμίας δυσλειτουργούν, αδυνατώντας να καλύψουν τις κυτταρικές ενεργειακές ανάγκες με οξειδωτική φωσφορυλίωση και έτσι ξεκινά η β-οξείδωση των λιπιδίων που κατακλύζουν το κυτταρόπλασμα του ηπατικού παρεγχύματος με στεάτωση. Τελικώς, η παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου (*ROS*), η ενεργοποίηση του ανοσολογικού μηχανισμού (κύτταρα *Kupffer*) και η παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών (*TNFα*) επιδεινώνει την υπάρχουσα ηπατική δυσλειτουργία και οδηγεί σε μη αναστρέψιμες βλάβες, ήδη από τη φάση της ηπατικής ισχαιμίας στο ήπαρ με στεάτωση, που θα επιβαρυνθούν εξαιτίας της βλάβης από την επαναιμάτωση.<sup>143,187</sup>

### **3.7 Βλάβες από ισχαιμία επαναιμάτωση στο ήπαρ με στεάτωση**

Είναι δεδομένο ότι το ήπαρ με στεάτωση, δηλαδή με συσσώρευση λιπιδίων εντός των ηπατοκυττάρων, είναι περισσότερο ευαίσθητο όταν υποβάλλεται σε μείζονες χειρουργικές επεμβάσεις (ηπατεκτομή, μεταμόσχευση, εκτεταμένο τραύμα) και ειδικότερα κατά τις φάσεις της αρχικής ισχαιμίας, αλλά και της επαναιμάτωσης. Οι βλάβες εξαιτίας της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης, επηρεάζουν σημαντικά την δομική και λειτουργική ακεραιότητα του οργάνου, περιορίζουν σοβαρά την αναγεννητική του ικανότητα και προκαλούν εκτεταμένη κυτταρική βλάβη και νέκρωση και επιδρούν αρνητικά στην τελική έκβαση.<sup>188</sup> Το ήπαρ με στεάτωση, γενικώς αδυνατεί να κινητοποιήσει επαρκώς τα ενεργειακά του αποθέματα.<sup>188-190</sup> Συσσωρεύει λιπίδια, που δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν άμεσα για παραγωγή ενέργειας με τη μορφή του ATP, ενώ όταν χρησιμοποιούνται με την λιπόλυση και τη νεογλυκογένεση, αποδίδουν πολύ μικρότερα ποσά ενέργειας και συγχρόνως συσσωρεύουν τοξικά υποπροϊόντα και ουσίες με

προφλεγμονώδη δράση. Τα βασικά προβλήματα που είναι εντονότερα στο ήπαρ με στεάτωση, σε σχέση με το φυσιολογικό ήπαρ, είναι τα μικρότερα αποθηκευμένα ποσά ενέργειας με την μορφή του ATP, καθώς και η πολύ μικρότερη ικανότητά του να αποκαθιστά αυτά τα αποθέματα μετά την οξεία εξάντλησή τους λόγω ισχαιμίας.<sup>189,190</sup>

Μια εκ των βασικών διαταραχών που επηρεάζει αρνητικά την αντοχή του ηπατικού παρεγχύματος με στεάτωση, είναι η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων. Βασικό χαρακτηριστικό της στεάτωσης είναι η συσσώρευση λιπιδίων, όχι μόνο στο κυτταρόπλασμα του ηπατοκυττάρου αλλά και στα μιτοχόνδρια, με την ανάπτυξη των χαρακτηριστικών μεγαμιτοχονδρίων. Τα μιτοχόνδρια δυσλειτουργούν με τελικό αποτέλεσμα την αδυναμία αποκατάστασης των ενεργειακών κυτταρικών αποθεμάτων σε ATP. Επίσης, η υπερενεργοποίηση της β-οξειδωσης και η συσσώρευση ROS οδηγεί στην ανάπτυξη έντονου οξειδωτικού *stress* και την παραγωγή κυτταροκινών όπως είναι ο *TNFα*. Η φλεγμονή, η οποία αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό της FLD και της εξέλιξής της, προϋπάρχει και επιδεινώνεται με την ισχαιμία και την έλλειψη ικανών ποσοτήτων ATP, αλλά και μετά την επαναιμάτωση με την ανεπαρκή αποκατάστασή του αποθέματός τους. Τελικά, τα ηπατοκύτταρα στην FLD μετά από ισχαιμία και επαναιμάτωση, οδηγούνται στην ανάπτυξη κυτταρικής νέκρωσης και λύσης, αντίθετα με τα φυσιολογικά ηπατοκύτταρα που αναπτύσσουν προγραμματισμένη απόπτωση ή αυτοφαγία. Η φλεγμονώδης αντίδραση στην FLD, μετά την ισχαιμική νέκρωση και λύση των στεατωτικών ηπατοκυττάρων, είναι εξαιρετικά έντονη και καταστροφική, ενώ το παθολογικό ηπατικό παρέγχυμα παρουσιάζει πολύ μικρή αναγεννητική ικανότητα.<sup>189-192</sup>

### **3.8 Ισχαιμική προετοιμασία σε ήπαρ με στεάτωση**

Ο προφυλακτικός ρόλος της μηχανικής ισχαιμικής προετοιμασίας (*IPC*) του ήπατος, πριν την ισχαιμία επαναιμάτωση, έχει αποδειχθεί τόσο για το φυσιολογικό ήπαρ, όσο και για αυτό με στεάτωση. Η εφαρμογή του χειρισμού *IPC* σε πειραματικά μοντέλα με ηπατική στεάτωση έχει αποδείξει την μικρότερη αύξηση των τρανσαμινασών μετά την επίδραση της ισχαιμίας-επαναιμάτωσης στην πραγματοποίηση ηπατεκτομών.<sup>157,193-194</sup>



Στις υπάρχουσες μελέτες υποστηρίζεται, ότι στο ήπαρ με στεάτωση που έχει υποστεί βλάβη ισχαιμίας και επαναιμάτωσης, η ποσότητα του αποθηκευμένου *ATP* και ο ρυθμός αποκατάστασης του εξαρτώνται από τη διάρκεια της ισχαιμίας και από την εφαρμογή πριν από αυτή του προφυλακτικού χειρισμού *IPC*. Υπάρχουν μελέτες, που επιβεβαιώνουν την βελτίωση της παραγωγής και την ταχύτερη αναπλήρωσή του *ATP* μετά από χειρισμό *IPC* (με 10 λεπτά ισχαιμία ακολουθούμενη από 10 λεπτά επαναιμάτωση) πριν την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης σε ήπαρ με στεάτωση.<sup>136,157,194,195</sup> Αυτή η αύξηση των επιπέδων του *ATP*, αποδίδεται στην ανάπτυξη διαφορετικών κυτταροπροστατευτικών μηχανισμών στο ήπαρ με στεάτωση σε σχέση με αυτούς που ενεργοποιούνται στο φυσιολογικό ήπαρ μετά τον χειρισμό *IPC*. Η βελτίωση των ενδοκυττάρων αποθεμάτων *ATP*, μετά τον χειρισμό *IPC* σε ήπαρ με ηπατική στεάτωση, κατ' αρχήν αποδίδεται στην μείωση του κυτταρικού μεταβολισμού γεγονός που σημαίνει μικρότερη ζήτηση και κατανάλωση ενέργειας. Δευτερευόντως αποδίδεται σε βελτίωση της μικροκυκλοφορίας, σε μείωση της έντασης του οξειδωτικού stress και σε αυξημένη παραγωγή του **NO** μέσω αύξησης της ενδοθηλιακής συνθετάσης του (*eNOS*).<sup>136-138,189</sup> Τέλος δεν έχει αποδειχθεί, κατά πόσο ο χειρισμός *IPC* βελτιώνει τη μιτοχονδριακή λειτουργία στην ηπατική στεάτωση.<sup>189</sup>

## 4. ΑΞΙΟΛΟΓΟΥΜΕΝΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ

### 4.1 Βιοχημικοί Δείκτες (AST, ALT, ALP και γGT)

Η ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (*AST*, *SGOT*) είναι διμερές ένζυμο που συμμετέχει καταλυτικά στην μεταφορά μιας αμινομάδας του *L*- ασπαρτικού οξέος στο μόριο του α-κετογλουταρικού οξέος, στην αλυσίδα παραγωγής της γλουταμίνης. Στον άνθρωπο εντοπίζεται με την μορφή δυο ισοενζύμων, το *GOT1/cAST* (εντοπίζεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών κυττάρων της καρδιάς) και το *GOT2/mAST* (εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια των ηπατοκυττάρων). Γίνεται άμεσα αντιληπτό ότι η *AST* εντοπίζεται κυρίως στο ήπαρ και την καρδιά, αλλά μπορεί να ανιχνευθεί σε ικανοποιητικές ποσότητες και στο νεφρό, στο πάγκρεας, στο σπλήνα, στους πνεύμονες, στους σκελετικούς μύες και στον εγκέφαλο. Η κλινική σημασία της *AST* ως μη εξειδικευμένου δείκτη φλεγμονής και κυτταρικής καταστροφής για τα ηπατοκύτταρα και τα κύτταρα του μυοκαρδίου είναι σημαντική. Ειδικά όμως για το ήπαρ, προκειμένου να εκτιμηθεί η μεταβολή της πρέπει να συνδυάζεται με αντίστοιχη αύξηση της *ALT/SGPT* που αποτελεί πιο ειδικό δείκτη ηπατικής φλεγμονής και ηπατοκυτταρικής βλάβης.<sup>196, 197</sup>

Η αλανινική αμινοτρανσφεράση (*ALT*, *SGPT*) είναι ένζυμο που καταλύει αμφίδρομα και προς τις δυο κατευθύνσεις του κύκλου της αλανίνης. Ουσιαστικά, καταλύει την αμφίδρομη μεταφορά της αμινομάδας μεταξύ της *L*-αλανίνης και του α-κετογλουταρικού οξέος, οδηγώντας στην παραγωγή *L*-γλουταμίνης. Έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία για τις ηπατοκυτταρικές βλάβες, μιας και αποτελεί δείκτη με μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα για το ήπαρ. Παρουσιάζει επίσης, αύξηση σε περιπτώσεις δίαιτας ελεύθερης χολίνης. Είναι αναγκαία σε κάθε περίπτωση η συσχέτισή της με την *AST*.<sup>198</sup> Ειδικότερα, στην *FLD* παρατηρείται αύξηση των τιμών και των δυο τρανσαμινασών, με τις τιμές της αλανινικής αμινοτρανσφεράσης (*ALT*, *SGPT*) να υπερβαίνουν αυτές της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (*AST*, *SGOT*). Σε πολύ μεγάλο ποσοστό (75-80%) ασθενών με ηπατική

στεάτωση, τα ηπατικά ένζυμα κυμαίνονται σε φυσιολογικές ή σχεδόν φυσιολογικές τιμές. Στη στεατοηπατίτιδα υπάρχει ήπια αύξηση στους περισσότερους ασθενείς, με την μέγιστη τιμή να μην υπερβαίνει το πενταπλάσιο των ανώτερων φυσιολογικών τιμών.<sup>198,199</sup> Στους περισσότερους από αυτούς τους ασθενείς ισχύει, ότι ο λόγος  $AST:ALT < 1$ , εφόσον δεν υπάρχει ίνωση ή αν υπάρχει είναι πολύ μικρή. Σταδιακά, καθώς η ίνωση στην ηπατική στεάτωση και την στεατοηπατίτιδα εξελίσσεται, ο λόγος  $AST:ALT$  τείνει να αυξηθεί.<sup>198-200</sup>

Η Αλκαλική Φωσφατάση (*Alkaline Phosphatase, ALP*) ανήκει στις ενζυμικές υδρολάσες, αποτελείται από μία ομάδα πέντε ενζύμων που διασπούν υδρολυτικά τα φωσφορικά άλατα σε αλκαλικό περιβάλλον (αποφωσφορυλίωση). Είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την διαγνωστική προσπέλαση ηπατο-χολικών και οστικών νοσημάτων. Εντοπίζεται σε όλους τους ιστούς του σώματος, όμως παράγεται κυρίως στο ήπαρ, δευτερευόντως στα οστά και στους νεφρούς, ενώ στο 20-25% των ατόμων εντοπίζεται και εντερικό ισοένζυμο της *ALP*. Αυξημένες τιμές της *ALP* παρατηρούνται στα ηπατικά νοσήματα και κυρίως σε περιπτώσεις ενδοηπατικού ή / και εξωηπατικού ίκτερου, στον υπερπαραθυρεοειδισμό, στον υποθυρεοειδισμό και σε σοβαρές παθήσεις του εριστικού ιστού και του αιμοποιητικού συστήματος. Μικρότερη συνήθως αύξηση παρατηρείται στα κακοήθη και λοιμώδη ηπατικά νοσήματα. Μικρή έως μέτρια αύξηση παρατηρείται στην βαριά στεατο-ηπατίτιδα και την ηπατική κίρρωση. Σε περιπτώσεις που χρήζει ιδιαίτερης διευκρίνισης η προέλευση της *ALP*, τότε εκτιμάται γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση (*γ-GT*), η παρουσία της οποίας σε αυξημένα ποσοστά μαζί με την *ALP*, υποδηλώνει την ηπατική προέλευση και κατευθύνει την διαγνωστική προσέγγιση σε ηπατικές παθήσεις. Τα αυξημένα επίπεδα της *ALP* μπορεί σε περιπτώσεις συνύπαρξης παραγόντων κινδύνου για *FLD* να θεωρηθούν ως ένδειξη πιθανής ηπατικής στεάτωσης.<sup>198-199</sup>

Η γ-Γλουταμυλ-Τρανσπεπτιδάση ή γ-Γλουταμυλ-Τρανσφεράση (*γ-Glutamyltranspeptidase, γGT*) εντοπίζεται κυρίως στο ήπαρ, στους νεφρούς και στο σπλήνα. Χρήσιμη για τη διερεύνηση του αποφρακτικού

ίκτηρου. Η αύξηση των επιπέδων της  $\gamma GT$  σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα σε ηπατικές παθήσεις με επίσης αυξημένα επίπεδα των  $ALT$  και  $AST$ , από τις οποίες αποτελεί ίσως καλύτερο δείκτη για τις σοβαρές ηπατοκυτταρικές βλάβες. Πολύ αυξημένες τιμές της  $\gamma GT$  σε ασθενείς με  $FLD$ , αυξάνουν τον κίνδυνο θανάτου κατά 60%.<sup>201</sup>

#### 4.2 Ανοσιακοί Δείκτες (Κυτταροκίνες $TNF\alpha$ και $IL6$ )

Οι δυο βασικές κυτταροκίνες που είναι υπεύθυνες σε μεγάλο βαθμό για την ρύθμιση της φλεγμονώδους αντίδρασης, αλλά και για την επιβίωση των ηπατοκυττάρων είναι ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων  $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  – $TNF\alpha$* ) και η ιντερλευκίνη 6 ( $IL6$ ),. Ειδικά ο  $TNF\alpha$ , ευθύνεται για την ρύθμιση του αποπτωτικού θανάτου και κατ' επέκταση για την επιβίωση των κυττάρων, ενώ διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο σε όλες σχεδόν τις φλεγμονώδεις διεργασίες που αναπτύσσονται στον οργανισμό. Από τις υπάρχουσες μελέτες προκύπτουν στοιχεία που επιβεβαιώνουν ότι και οι δύο κυτταροκίνες ( $TNF\alpha$  και  $IL6$ ) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της  $FLD$  και στην εξέλιξή της προς στεατοηπατίτιδα και ίνωση. Ουσιαστικά, αποτελούν τους βασικότερους παράγοντες που διεγείρουν την ηπατική φλεγμονή, την ηπατοκυτταρική νέκρωση, την απόπτωση και την ανάπτυξη της ίνωσης.<sup>202</sup>

Η  $IL6$  είναι προφλεγμονώδης κυτταροκίνη που ενεργοποιεί τον μεταγραφικό παράγοντα  $STAT3$ , ο οποίος παράγεται μετά την ηπατική νέκρωση και είναι υπεύθυνος για την ενεργοποίηση του μηχανισμού της οξείας φλεγμονώδους αντίδρασης και της αναγέννησης των ηπατοκυττάρων. Για το ήπαρ, η  $IL6$  αποτελεί τον βασικό επαγωγέα ανταπόκρισης στην οξεία φάση της ηπατοκυτταρικής βλάβης και συγχρόνως την βασικότερη ηπατοπροστατευτική κυτταροκίνη.<sup>202</sup> Η  $IL6$  πέρα από παράγοντας διαφοροποίησης των Β-λεμφοκυττάρων, είναι υπεύθυνη για μια πληθώρα βιολογικών δράσεων, όπως η ανοσολογική απάντηση, η αιμοποίηση, η οξεία φλεγμονώδης αντίδραση, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η κυτταρική επιβίωση. Η δράση της  $IL6$  επιτυγχάνεται μέσω του υποδοχέα της  $IL6$  ( $IL-6R$ ) και της πρωτεΐνης μεταγωγής σήματος  $gp130$ . Διαταραχή της λειτουργίας του γονιδίου της

IL6 σε ποντίκια, αναστέλλει την αναγέννηση του ήπατος και αυξάνει την ευαισθησία στην πρόκληση βλαβών μετά την επίδραση τοξικών ή μικροβιακών παραγόντων, την ισχαιμία/επαναιμάτωση και τη μερική ηπατεκτομή. Φαίνεται επίσης, ότι η IL-6 με την ενεργοποίηση του *STAT3* προστατεύει από το θάνατο τα ηπατοκύτταρα, καθώς και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των κολπώδων ηπατικών τριχοειδών.<sup>202,203</sup>

Σημαντικό επίσης ηπατοπροστατευτικό ρόλο διαδραματίζει το σύμπλεγμα *IL6 / STAT3* μέσω της επαγωγής των αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών (*Bcl-xL, Bcl-2, Mcl-1*) και των αντιοξειδωτικών παραγόντων (οξειδοαναγωγικός παράγοντας-1). Διάφορες μελέτες έχουν αποδείξει το προστατευτικό αποτέλεσμα της *IL6* στην ηπατική βλάβη μετά την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης.<sup>202,203</sup>

#### 4.3 Γαλακτικό οξύ

Το γαλακτικό οξύ (*Lactic acid*) αποτελεί τον συνηθέστερα χρησιμοποιούμενο δείκτη του αναερόβιου μεταβολισμού, αντανακλώντας την ανεπαρκή ιστική αιμάτωση και οξυγόνωση. Αποτελεί προϊόν του αναερόβιου μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιπών. παράγεται μετά τη γλυκόλυση και προέρχεται από την προσθήκη υδρογόνου στο πυροσταφυλικό οξύ. Απώτερος στόχος της παραγωγής του γαλακτικού οξέος είναι η απομάκρυνση του υδρογόνου από τους ιστούς και η μεταφορά του στο ήπαρ. Τα επίπεδα του γαλακτικού οξέος βρίσκονται σε άμεση συνάρτηση με το ρυθμό παραγωγής του. Αύξηση της παραγωγής σημαίνει άμεσα ταχύτερη και μεγαλύτερη πρόσληψη από το ήπαρ, μέχρις ότου η συγκέντρωση ξεπεράσει τα  $2 \text{ mmol/L}$ . Σε αυτό το επίπεδο το ήπαρ δεν μπορεί να διαχειριστεί πλέον μεγαλύτερα ποσά γαλακτικού οξέος, επέρχεται κορεσμός στη διαδικασία απομάκρυνσής του και αύξηση της συγκέντρωσής του στο αίμα.<sup>204-206</sup>

Η παθολογική ιστική διάχυση του οξυγόνου (ισχαιμία) εκτρέπει το βασικό αερόβιο μεταβολισμό προς τον αναερόβιο, με την σύγχρονη απελευθέρωση γαλακτικού οξέος στους προσβεβλημένους ιστούς και στο πλάσμα. Γενικώς αυξημένες τιμές του γαλακτικού οξέος παρατηρούνται

στις ισχαιμικές καταστάσεις, στην υποογκαιμική και σηπτική καταπληξία και ευρύτερα, όπου εκδηλώνεται διαταραχή της τριχοειδικής μικροκυκλοφορίας. Η αύξηση του γαλακτικού είναι ιδιαίτερα εμφανής σε παθήσεις που προσβάλλουν πρωτοπαθώς το ήπαρ, αλλά και σε συστηματικές παθήσεις που διαταράσσουν την πλούσια μικροκυκλοφορία του. Είναι χαρακτηριστική η προγνωστική αξία, για την νοσηρότητα και τη θνητότητα, που παρουσιάζει η αύξηση του γαλακτικού οξέος σε διαφορά πειραματικά μοντέλα ισχαιμίας και υποξίας του ήπατος.<sup>204-208</sup>

#### 4.4 Μονοξειδίο του Αζώτου

Το μονοξειδίο του Αζώτου (*NO*) προέρχεται από το αγγειακό ενδοθήλιο και κατατάσσεται στις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες ρύθμισης της αγγειακής ενδοθηλιακής λειτουργίας (ασκεί αγγειοδιασταλτική, αντιύπερπλαστική και αντιαποπρωτική δράση στο αγγειακό τοίχωμα), ενώ συγχρόνως λειτουργεί και ανοσοτροποποιητικά επηρεάζοντας την ενεργοποίηση των παραγόντων της φλεγμονής.<sup>192,193,205,209</sup> Παράγεται από το αμινοξύ *L*-αργινίνη με την επίδραση του ειδικού ενζύμου της συνθετάσης του νιτρικού οξέος. Αποτελεί διαβιβαστή που ενεργοποιεί το κυτταροπλασματικό ένζυμο γουανυλική κυκλάση (*sGC*) και καταλύει την αποφωσφορυλίωση του *GTP* με μετατροπή του σε *cGMP*. Έχει χρόνο ημίσειας ζωής διάρκειας λίγων δευτερόλεπτων και μετατρέπεται υπό την επίδραση του οξυγόνου και της αιμοσφαιρίνης σε νιτρικά (*NO<sub>3</sub><sup>-</sup>*) και νιτρώδη (*NO<sub>2</sub><sup>-</sup>*) άλατα, που αποδίδουν *NO* σε συνθήκες ιστικής οξέωσης και /ή υποξίας.<sup>209,210,211</sup>

Διακρίνονται οι εξής μορφές του ισοενζύμου της συνθετάσης του *NO*, η ενδοθηλιακή (*eNOS*), η επαγόμενη (*iNOS*) και η νευρωνική (*nNO*). Η ενδοθηλιακή *eNOS* εντοπίζεται σε μικροσχηματισμούς στην κυτταρική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων, οι οποίοι ανιχνεύουν μεταβολές της ιστικής αιματικής ροής και αναλόγως επηρεάζουν τον αγγειακό τόνο στα τοπικά αγγεία με την τοπική παραγωγή του *NO*.<sup>209,211-214</sup> Η *eNOS* διατηρεί σταθερή και συνεχή τη σύνθεση του *NO*, ενώ είναι σε ετοιμότητα να μεταβάλλει την παραγωγή ανάλογα με τις υπάρχουσες συνθήκες. Η σταθερή παραγωγή του *NO* είναι αναγκαία μιας και το

ενδοθήλιο και κατ' επέκταση το οποιοδήποτε αγγείο, ακόμα και υπό φυσιολογικές συνθήκες, είναι εκτεθειμένο σε αιμοδυναμικές μεταβολές της αιματικής ροής και της τοιχωματικής τάσης.<sup>212-214</sup>

Η ενεργοποίηση της παραγωγής της *eNOS* γίνεται μέσω της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης-3 κινάσης (*PI3K*), του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (*VEGF*), των οιστρογόνων, της φωσφορικής-1 σφιγγοσίνης (*S1P*), της βραδυκινίνης και του αντιαποπρωτικού μονοπατιού της *PI3K/Akt*. Το παραγόμενο στο ενδοθήλιο *NO* ενεργοποιεί την *sGC*, προκαλώντας την αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης του *cGMP*. Τελικά, επέρχεται χάλαση των λείων μυϊκών ινών του τοιχώματος των αγγείων και αγγειοδιαστολή, ενώ μέσω του σχηματισμού νιτρωδών ενώσεων με σίδηρο-θειούχες πρωτεΐνες (*FeS*) αναπτύσσεται η αντιυπερπλαστική δράση του *NO* στο αγγειακό τοίχωμα.<sup>212-214</sup>

Η επαγόμενη συνθετάση του *NO* (*iNOS*) εντοπίζεται στα ηπατοκύτταρα, στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (μακροφάγα, πολυμορφοπύρηνα και κύτταρα Kupffer), αλλά και στα κύτταρα των περισσότερων ιστών του ανθρώπινου σώματος. Επάγεται από την επίδραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών, (*TNF $\alpha$* , *IL1 $\beta$* , και *INF $\gamma$* ) μετά από οξειδωτικό *stress* και φλεγμονή.<sup>215-217</sup> Είναι άγνωστη ή ακριβής δράση του *NO* που παράγεται από την επαγωγική επίδραση της *iNOS*.<sup>218</sup> Παρότι έχει εξακριβωθεί ότι κατά κύριο λόγο επιδρά θετικά, εντούτοις έχει αποδειχθεί και η επιβαρυντική δράση του όταν παράγεται σε συνθήκες έντονου οξειδωτικού *stress*. Τότε το *NO* μαζί με το παραγόμενο υπεροξειδίο του υδρογόνου (*H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>*) δημιουργούν τοξικές υπερνιτρικές ρίζες, που προκαλούν ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.<sup>86,219-221</sup> Στα κύτταρα του νευρικού ιστού, στις λείες μυϊκές ίνες (μυοκαρδίου και αγγείων) και στους σκελετικούς μύες εκφράζεται η νευρωνική *nNOS* για την παραγωγή του *NO*, που εμφανίζει πρωτίστως ιδιότητες νευροδιαβιβαστή και δευτερευόντως αγγειοδιασταλτικού διαμεσολαβητή.<sup>222-225</sup>

Το *NO* αναστέλλει την απόπτωση των κυττάρων, μέσω της παραγωγής του *cGMP* και την κινητοποίηση των μεταγραφικών πυρηνικών παραγόντων, για αναβολική αποκατάσταση και πολλαπλασιασμό του κυττάρου, που

υφίσταται την βλαπτική επίδραση του οξειδωτικού *stress*. Ανάλογα όμως με την συγκέντρωση του, την υπερενεργοποίηση της *iNOS* σε σχέση με την *eNOS*, την παραγωγή από ενδοθηλιακά ή ανοσιακά κύτταρα και την παρουσία οξειδωτικού *stress* και φλεγμονής, μπορεί να λειτουργήσει και ως αμιγώς αποπτωτικός παράγοντας, εμποδίζοντας της εξέλιξη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και να συνεργήσει με την αποπτωτική δράση του *TNFα*.<sup>225,226</sup>

#### 4.5 Γλουταθειόνη

Η γλουταθειόνη (*Glutathione, GSH*), αποτελεί οργανική χημική ένωση με διπτή φύση (δικαρβονικό οξύ καιθειόλη). Ουσιαστικά είναι ένα τριπεπτίδιο, αποτελούμενο από γλουταμινικό οξύ, *L*-κυστεΐνη (θειούχο αμινοξύ) και γλυκίνη. Παρουσιάζει σημαντική αντιοξειδωτική δράση, αποτελώντας σημαντικό παράγοντα διατήρησης σταθερού του οξειδοαναγωγικού δυναμικού των ιστών. Τη γλουταθειόνη μπορεί να τη συνθέσει ο ανθρώπινος οργανισμός, με ρυθμό που καθορίζεται από την περίσσεια της κυστεΐνης. Η κυστεΐνη είναι αυτή που με τηνθειομάδα της καθορίζει την παροχή πρωτονίων και ρυθμίζει τη βιολογική δράση του μορίου της γλουταθειόνης.<sup>227</sup> Η παραγωγή της γλουταθειόνης είναι *ATP* – εξαρτώμενη και πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Όλα τα κύτταρα του ανθρώπινου σώματος και ιδιαίτερα τα ηπατικά, μπορούν να συνθέτουν τη γλουταθειόνη. Στον οργανισμό απαντάται με δύο μορφές, την αναγμένη (*GSH*) και την οξειδωμένη (*GSSG*). Στην αναγμένη (*GSH*) μορφή, ηθειομάδα της κυστεΐνης παρέχει υδρογονοκατιόντα σε ασταθή μόρια, όπως οι δραστικές ρίζες οξυγόνου και μεταπίπτει στην οξειδωμένη μορφή της γλουταθειόνης (*GSSG*). Με την επίδραση της αναγωγάσης της *GSH* μπορεί η οξειδωμένη μορφή να μεταπέσει ξανά στην αναγμένη.<sup>227</sup> Το μεγαλύτερο ποσοστό της γλουταθειόνης του οργανισμού (περίπου το 90%) ανήκει στην αναγμένη μορφή και το υπόλοιπο στην οξειδωμένη. Διαταραχή του λόγου *GSSG* / *GSH*, με αύξηση της οξειδωμένης και μείωση της αναγμένης μορφής αποτελεί ισχυρή ένδειξη οξειδωτικού *Stress*. Η γλουταθειόνη αποτελεί το βασικότερο ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα, με άμεσο σκοπό την εξουδετέρωση των ελεύθερων δραστικών ριζών οξυγόνου. Συμμετέχει



στην παραγωγή του *NO*, επιδρά στην σύνθεση των πρωτεϊνών, του *DNA*, των προσταγλανδινών, των λευκοτριενίων και διαφόρων ενζύμων. Ρυθμίζει τον μεταβολισμό του σιδήρου και συμβάλλει στην αδρανοποίηση και αποβολή διαφόρων τοξικών ουσιών, ενώ συγχρόνως ασκεί ηπατοπροστατευτική δράση. Το ήπαρ λόγω αυτόνομης σύνθεσης της κυστεΐνης, παρουσιάζει τα υψηλότερα επίπεδα της *GSH* από όλο τον οργανισμό, συμβάλλοντας μέσω αυτής σημαντικά, στην βιο-εξουδετέρωση και αποβολή των τοξικών ενδογενών κι εξωγενών ουσιών. Διαταραχή των επιπέδων της *GSH* αποτελεί ισχυρή ένδειξη οξειδωτικού stress, ενώ διαταραχή στα επίπεδα της στον ηπατικό ιστό μπορεί να οδηγήσουν στην ανάπτυξη και εξέλιξη της ηπατικής στεάτωσης. Η διαταραχή πιθανόν οφείλεται σε μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, που διαταράσσει την ομοιόσταση των λιπαρών οξέων και προκαλεί υπερπαραγωγή ROS και λιπιδίων, που οδηγούν στην υπεροξειδωση και την κυτταρική βλάβη.<sup>227</sup>

#### **4.6 Λοιποί μελετώμενοι Δείκτες (Χοληστερόλη, Τριγλυκερίδια, Ολικά Λιπίδια)**

Η χοληστερόλη (*Cholesterol, CHOL*) αποτελεί βασική στερόλη του οργανισμού, απαραίτητη για την σταθερότητα των κυτταρικών μεμβρανών και την ομαλή λειτουργία των νευρικών κυττάρων. Αναπτύσσει ισχυρές διαμοριακές δυνάμεις με τα τριγλυκερίδια των κυτταρικών μεμβρανών και το νερό, προσδίδοντάς τους ρευστές ιδιότητες και συγχρόνως σταθερότητα. Ανευρίσκεται στα κύτταρα όλου του σώματος και στο αίμα. Είναι απαραίτητη για την παραγωγή των λιποδιαλυτών βιταμινών (όπως, η βιταμίνη D<sub>3</sub>) και την παραγωγή των στεροειδών ορμονών (κορτιζόλη, αλδοστερόνη, οιστρογόνα, τεστοστερόνη). Δεσμεύεται σε πρωτεΐνες δημιουργώντας λιποπρωτεΐνες, με κύρια θέση παραγωγής το ήπαρ. Τα λιπαρά οξέα αποτελούν γραμμικές ενώσεις αλειφατικών καρβοξυλικών οξέων με 12-20 άτομα άνθρακα στο μόριο τους και διακρίνονται σε κορεσμένα και ακόρεστα. Τα τριγλυκερίδια (*Triglycerides, TG*) αποτελούν τρι-εστέρες της γλυκερόλης με ελευθέρω λιπαρά οξέα. Κάθε μόριο λιπαρού οξέος συνδέεται με μια υδροξυλομάδα (OH<sup>-</sup>) από τις τρεις συνολικά της γλυκερόλης. Και οι τρεις παραπάνω παράγοντες (χοληστερόλη,

τριγλυκερίδια και λιπαρά οξέα) στην FLD συσσωρεύονται στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων δημιουργώντας τα χαρακτηριστικά κενोटόπια της λιπώδους διήθησης. Ουσιαστικά, η παραγωγή των τριγλυκεριδίων και των λιποπρωτεϊνών λαμβάνει χώρα στο ήπαρ, το οποίο αποτελεί τον αρχικό σταθμό του ενδογενούς συστήματος μεταφοράς των λιπιδίων και στην ουσία τον βασικό τροφοδότη όλου του οργανισμού. Στο ήπαρ, η χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια, συνδέονται με πρωτεΐνες παράγοντας τις πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (*Very Low Density Lipoproteins – VLDL*), οι οποίες εν συνεχεία απελευθερώνονται στην κυκλοφορία του αίματος για χρήση από τους άλλους ιστούς. Η αυξημένη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων μαζί με τη συνύπαρξη παραγόντων κινδύνου για μεταβολικό σύνδρομο ή για FLD, συνδέεται με την ανάπτυξη λιπώδους ηπατικής διηθήσεως. Τέλος, τα λιπαρά οξέα συνδέονται με την πρόκληση φλεγμονώδους αντίδρασης και επίτασης του οξειδωτικού stress μετά την επίδραση τοξικών παραγόντων στο ηπατοκύτταρο.<sup>228</sup>

## 5. ΕΠΙΛΟΓΗ ΖΩΙΚΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ

### 5.1 Πειραματικά Μοντέλα Ηπατικής Στεάτωσης

Στην προσπάθεια κατανόησης της επίδρασης της FLD έχουν χρησιμοποιηθεί ποικίλα πειραματικά μοντέλα, με τη χρήση ζωικών προτύπων. Στόχος όλων των προσπαθειών είναι να αναπτυχθεί ιδανικό μοντέλο ηπατικής στεάτωσης, με παρόμοια αιτιοπαθογένεια με τον άνθρωπο, που να καλύπτει όλες τις πολύπλοκες διαδικασίες ανάπτυξης και εξέλιξης των ιστολογικών βλαβών, προκειμένου να μελετηθούν κατά το δυνατόν περισσότερο αξιόπιστα οι διάφορες μεταβολές. Τα συγκεκριμένα πειραματικά μοντέλα πρέπει να είναι αξιόπιστα, αναπαραγώγιμα, εύκολα τεχνικά και προσιτά στην έρευνα και τη μελέτη, με τους λιγότερους περιορισμούς. Τα μικρότερα ζωικά πρότυπα (μύες και επίμυες) έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς, σε πολλά μοντέλα. Παρόλα αυτά, η χρήση τους αποδίδει μόνο τμηματικά την παθογένεια της FLD, ανάλογα με το τεχνικό μονοπάτι πρόκλησης της στεάτωσης που θα εφαρμοσθεί.<sup>144,229</sup>

Σε κάποια μπορεί να αναπτυχθεί στεατοηπατίτιδα, όμως πολύ σπάνια μπορεί να επιτευχθεί ίνωση και κίρρωση. Αυτό αποδεικνύει την αδυναμία των μέχρι τώρα υπαρχόντων μοντέλων να αναπτύξουν τις υπεύθυνες μεταβολικές διαταραχές (π.χ. αντίσταση στην ινσουλίνη, υπερινσουλιναιμία, υπεργλυκαιμία, κλπ.), παρότι αναπτύσσουν ιστολογικά το μοντέλο της συσσώρευσης των λιπιδίων στο κυτταρόπλασμα του ηπατοκυττάρου. Συνήθως χρησιμοποιούνται δίαιτες ελεύθερες χολίνης ή /και μεθειονίνης, υπερλιπιδικές δίαιτες (με υψηλή περιεκτικότητα σε χοληστερόλη και λιπίδια) και γενετικά τροποποιημένα ζωικά πρότυπα. Από τα παραπάνω μοντέλα, αυτά με την έλλειψη χολίνης/μεθειονίνης και της λιπιδικής υπερδιατροφής, ίσως αποδίδουν καλύτερα την εξέλιξη της FLD μέχρι το στάδιο της στεατοηπατίτιδας και της ηπατικής βλάβης, γιατί υπάρχει η πολύπλοκη αλληλεπίδραση πολλαπλών παθογενετικών μηχανισμών. Σε κάθε περίπτωση όμως, πρέπει να τονιστεί ότι είναι αδύνατο να επιτευχθεί η παθογένεια που αναπτύσσεται στον άνθρωπο.

Επίσης, το χρονικό διάστημα ανάπτυξης και εξέλιξης στον άνθρωπο είναι αρκετά μεγάλο και σε καμία περίπτωση δεν είναι εύκολο να αναπτυχθεί αυθόρμητα σε ζωικά πρότυπα, ακόμα και με μικρό και ταχύτερο κύκλο ζωής (όπως οι επίμυες).<sup>144,229,230</sup>

Το επόμενο πρόβλημα, είναι η χρήση των δεδομένων που προκύπτουν από την μελέτη των πειραματικών μοντέλων και κατά πόσο μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ερμηνεία των παθογενετικών μηχανισμών στον άνθρωπο. Σε αρκετές περιπτώσεις δε, είναι η επαλήθευσή τους με κλινική έρευνα είναι αρκετά προβληματική και δύσκολη. Στα πειραματικά μοντέλα χρησιμοποιούνται ομοιογενείς πληθυσμοί ζωικών προτύπων, με συγκεκριμένα και επιλεγμένα χαρακτηριστικά (είδος, στέλεχος, φύλο, βάρος ή ηλικία, εργαστηριακές συνθήκες, είδος δίαιτας, κλπ.). Επιπρόσθετα, τα ζωικά πρότυπα έχουν σημαντικές διαφορές σε σχέση με τον άνθρωπο στο γενετικό δυναμικό, τη συννοσηρότητα, τον τρόπο ζωής, τη λήψη και τη δραστικότητα των φαρμακευτικών σκευασμάτων, ενώ ιδιοσυστασιακά έχουν διαφορετική απάντηση στην υπερλιπιδαιμία, την ηπατική στεάτωση και το μεταβολικό σύνδρομο, παρουσιάζοντας μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στον μικρό κύκλο ζωής τους. Τα κρίσιμα ευρήματα σε ζωικά μοντέλα πρέπει να επαληθεύονται με κλινική έρευνα, όταν είναι δυνατόν. Παρότι δεν υπάρχει το ιδανικό πειραματικό μοντέλο που να αναπαριστά επακριβώς την ανθρώπινη FLD, τα ζωικά πρότυπα θα συνεχίσουν να παρέχουν την πολύτιμη συνδρομή τους και να αποτελούν το βασικό εργαλείο για την έρευνα.<sup>146,240,241</sup> Ακολουθεί μια σύντομη ανασκόπηση των βασικών πειραματικών μοντέλων στεάτωσης κυρίως σε επίμυες, μιας και αυτοί χρησιμοποιούνται συνηθέστερα *in vivo* και συγχρόνως επιτρέπουν την ασφαλή εφαρμογή αρκετών χειρουργικών χειρισμών.<sup>144,229-231</sup>

### **5.1.1 Γενετικά Τροποποιημένα Μοντέλα**

Παρά τον μεγάλο αριθμό γενετικά τροποποιημένων μυών, υπάρχουν πολύ λίγα μοντέλα γενετικά τροποποιημένων επίμυων.<sup>232</sup> Οι επίμυες του είδους *Zucker (ZUC-Lep<sup>fa</sup>)* είναι οι συχνότερα χρησιμοποιούμενοι σε πειραματικά μοντέλα FLD. Έχουν φυσική μετάλλαξη στον υποδοχέα της λεπτίνης,

αναπτύσσοντας παχυσαρκία, αντίσταση στην ινσουλίνη, μεταβολικό σύνδρομο και ηπατική στεάτωση. Η ανάπτυξη της ηπατικής στεάτωσης απαιτεί την παρουσία ενός παράγοντα ενεργοποίησης (δεύτερο χτύπημα), που συνήθως είναι διατροφή πλούσια σε υδατάνθρακες μικρής αλύσου και λιποσακχαρίτες ή υπερλιπιδική δίαιτα σε συνδυασμό με έλλειψη χολίνης ή/και μεθειονίνης.<sup>144,233-235</sup> Η αυξημένη έκφραση του *SREBP-1c* ακολουθείται από αυξημένη έκφραση ενζύμων, που επάγουν την παραγωγή και τη συσσώρευση τριγλυκεριδίων στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων.<sup>144,236</sup> Το πειραματικό μοντέλο αναπτύσσει υπερλιπιδαιμία, μικροκενοτοπιώδη και μακροκενοτοπιώδη ηπατική στεάτωση, η οποία όμως δε εξελίσσεται σε στεατοηπατίτιδα. Η αναγεννητική ικανότητα μετά από >65% ηπατεκτομή είναι πολύ περιορισμένη.<sup>144</sup> Το πειραματικό μοντέλο χρειάζεται περίπου 8 εβδομάδες, μετά την επαφή με τον ενεργοποιητικό παράγοντα (ειδικό διαιτολόγιο – δεύτερο χτύπημα) για να αναπτυχθεί μικτή ηπατική στεάτωση.<sup>144</sup> Το παραπάνω μοντέλο προσομοιώνει μερικώς μόνο το μεταβολικό σύνδρομο και δεν εξελίσσεται αυθόρμητα η στεατοηπατίτιδα, ενώ δεν αναπτύσσει σχεδόν ποτέ ηπατική ίνωση. Παρόμοιο πειραματικό μοντέλο με υπολειπόμενη μετάλλαξη στο γονίδιο που εκφράζει τον υποδοχέα της λεπτίνης, φέρουν οι επίμυες του είδους *Koletsky (SHROB/KoIGmiCrl-Leprcp/Crl)*, που αναπτύσσουν επίσης ηπατική στεάτωση μετά από έκθεση σε δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια και χοληστερόλη.<sup>144</sup>

Άλλο γονιδιακά τροποποιημένο πειραματικό μοντέλο είναι οι επίμυες *Otsuka Long-Evans Tokushima (OLETF/LE)* και εμφανίζουν χαμηλή ή απουσία έκφρασης του *mRNA* του υποδοχέα της χολοκυστοκίνης (*CCK-1*).<sup>144,237</sup> Το συγκεκριμένο στέλεχος αρουραίων παρουσιάζει σακχαρώδη διαβήτη, ήπια παχυσαρκία, υπερλιπιδαιμία, υπερινσουλιναιμία, αντίσταση στην ινσουλίνη και αυξημένες τιμές λεπτίνης και *IL6*. Εμφανίζουν αυθόρμητα μικτή ηπατική στεάτωση με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά οξέα σε ηλικία 22-38 εβδομάδων, που όμως εξαφανίζεται μετά την 42η εβδομάδα. Η χορήγηση δίαιτα ελεύθερης χολίνης/μεθειονίνης στους επίμυες *Otsuka Long-Evans Tokushima*, επάγει έντονη φλεγμονή και

ανάπτυξη υψηλόβαθμης ίνωσης στο ηπατικό παρέγχυμα. Όπως οι επίμυες Zucker, έτσι και οι επίμυες *Otsuka Long-Evans Tokushima*, δεν αναπαράγουν επαρκώς την αιτιοπαθογένεια της *FLD*. Στην ηλικία των 22-38 εβδομάδων προτείνονται ως ζωικά πρότυπα ηπατικής στεάτωσης, αλλά χωρίς την προσθήκη ειδικής δίαιτας εξαρχής δεν αναπτύσσουν στεατοηπατίτιδα και ηπατική ίνωση.<sup>144</sup>

### **5.1.2 Μοντέλα στεάτωσης με δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε λιπίδια**

Στη φυσιολογική διατροφή των επίμυων περιέχεται μικρότερη ποσότητα λιπιδίων σε σχέση με την καθημερινή δίαιτα των ανθρώπων που λαμβάνουν το 30% της ενέργειας από την κατανάλωση λιπών. Αντίθετα, οι επίμυες καλύπτουν το πολύ μέχρι το 10% των ημερήσιων ενεργειακών αναγκών από την κατανάλωση λιπών.<sup>144</sup> Οι υπάρχουσες δίαιτες πλούσιες σε λίπη που έχουν χρησιμοποιηθεί σε επίμυες για πρόκληση ηπατικής στεάτωσης διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, αυτές που καλύπτουν 30-50% των ημερήσιων αναγκών με λίπη και αυτές που καλύπτουν >50% των ημερήσιων αναγκών με λίπη.<sup>144,238</sup> Οι υπάρχουσες μελέτες δεν έχουν καταφέρει να καταδείξουν εξέλιξη της απλής ηπατικής στεάτωσης σε στεατοηπατίτιδα, ενώ επίσης αποδίδουν και διαφορετικά αποτελέσματα ως προς την ανάπτυξη μεταβολικής παθοφυσιολογίας παρόμοιας με του ανθρώπου (ινσουλινο-αντίσταση, υπεργλυκαιμία και δυσλιπιδαιμία). Μεγάλης σημασίας είναι η σωστή επιλογή της αναλογίας μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (αναλογία ω-3 προς ω-6 λιπαρά οξέα), καθώς και η αναλογία πρωτεϊνών και υδατανθράκων. Σε αρκετές περιπτώσεις, η χορήγηση πρέπει να γίνεται με τοποθέτηση στοματογαστρικού καθετήρα, προκειμένου να χορηγηθεί η απαιτούμενη ποσότητα τροφής.<sup>144,238-241</sup>

Από τις υπάρχουσες μελέτες σε τρία διαφορετικά είδη επίμυων (*Wistar*, *Lewis* και *Sprague-Dawley*) με τη χορήγηση για 3 εβδομάδες δίαιτας με πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος (κάλυψη του 71% των ενεργειακών αναγκών από λίπη) επιτεύχθηκε υψηλού βαθμού λιπώδης διήθηση (> 66%) των ηπατοκυττάρων. Επίσης, οι αρσενικοί επίμυες και των τριών ειδών

ανέπτυξαν σε ικανοποιητικό βαθμό ίνωση, σε αντίθεση με τους θηλυκούς. Και τα τρία είδη ανέπτυξαν μικτή (μικροκενοτοπιώδη και μακροκενοτοπιώδη) ηπατική στεάτωση, όμως οι Wistar και οι Sprague-Dawley ανέπτυξαν εντονότερα και σε μεγαλύτερη έκταση την μακροκενοτοπιώδη στεάτωση, επιτρέποντας την ανάπτυξη κάποιου βαθμού ίνωσης του ηπατικού παρεγχύματος.<sup>144</sup>

Οι υπάρχουσες δίαιτες επιτυγχάνουν ηπατική στεάτωση, φλεγμονή και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, χωρίς σημαντική αύξηση των τρανσαμινασών. Από τις ιστολογικές μελέτες, παρατηρείται αύξηση στον ηπατικό ιστό του παράγοντα *TNFα*, του κολλαγόνου τύπου 1 και των δεικτών υπεροξειδωσης των λιπαρών οξέων. Δίαιτες με κάλυψη του 35-50% των ημερήσιων ενεργειακών αναγκών με λίπη, δεν καταφέρνουν πάντα να προκαλέσουν ηπατική στεάτωση. Σίγουρα απαιτείται μακρύτερο χρονικό διάστημα σίτισης (>5-6 εβδομάδων).<sup>144</sup> Τελευταία, δίαιτες που περιέχουν μικρότερες ποσότητες λίπους, το οποίο αποτελείται κατά κύριο λόγο (>98%) από πολυακόρεστα ω-6 λιπαρά οξέα, επιτυγχάνουν ιστοπαθολογική ομοιότητα με τον άνθρωπο στο παθογενετικό μονοπάτι του μεταβολικού συνδρόμου, με ηπατική στεάτωση, λοβιακή φλεγμονή, ηπατοκυτταρική διόγκωση, ηπατοκυτταρική νέκρωση και απόπτωση με ίνωση στη Ζώνη III (κεντρολοβιακά).<sup>144</sup> Η χρήση των πολυακόρεστων ω-6 λιπαρών οξέων, που αποτελούν προφλεγμονώδεις παράγοντες, ουσιαστικά επιτείνει την φλεγμονώδη αντίδραση και την ηπατοκυτταρική βλάβη.

Τέλος, έχει χρησιμοποιηθεί δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες (φρουκτόζη και σουκρόζη) η οποία επάγει *de novo* την λιπογένεση και ουσιαστικά προκαλεί υπερλιπιδαιμία, αντίσταση στην ινσουλίνη, αύξηση των προφλεγμονωδών κυτοκινών και της υπεροξειδωσης των λιπαρών οξέων. Η διάρκεια της δίαιτας είναι >15-16 εβδομάδων, μπορεί να συνδυαστεί με υψηλή χορήγηση λιπιδίων και

χοληστερόλης και οδηγεί στην πρόκληση πανλοβιακής μικροκενοτοπιώδους ηπατικής στεάτωσης, χρόνια λοβιακής φλεγμονής και στεατοηπατίτιδας.<sup>144</sup>

### 5.1.3 Δίαιτες ελεύθερες χολίνης και χολίνης – μεθειονίνης

Τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα πειραματικά μοντέλα πρόκλησης *FLD*, αφορούν την διατροφή ελεύθερη χολίνης ή χολίνης/μεθειονίνης.<sup>144,242</sup> Η χολίνη είναι υδατοδιαλυτή βασική ουσία που μοιάζει με τις βιταμίνες του συμπλέγματος Β, με τις οποίες έχει συμπληρωματική δράση. Ανήκει στην τάξη των αλάτων του τεταρτοταγούς αμμωνίου και είναι απαραίτητη ουσία του μεταβολισμού, γιατί συμμετέχει στην μεθυλίωση των λιπιδίων και είναι απαραίτητη για την κυτταρική παραγωγή φωσφατιδυλοχολίνης (υπεύθυνη για την ακεραιότητα της κυτταρικής μεμβράνης και την σύνθεση της *VLDL*), σφιγγομυελίνης (υπεύθυνη για την ομαλή λειτουργία των νευρικών κυττάρων) και ακετυλοχολίνης (βασικός νευροδιαβιβαστής).<sup>144,242</sup> Ο άνθρωπος μπορεί να την συνθέσει στο ήπαρ, ενώ η απουσία της σχετίζεται με ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης και ποικίλες διαταραχές στο νευρικό σύστημα. Αντίθετα με τον άνθρωπο, οι επίμυες δεν την συνθέτουν και έχουν ανάγκη αυτή να περιέχεται στην διατροφή τους. Η μεθειονίνη ανήκει στα απαραίτητα θειούχα αμινοξέα, που δεν μπορεί να συνθέσει ο οργανισμός και πρέπει να λαμβάνει με την τροφή. Είναι απαραίτητο για την πρωτεϊνοσύνθεση, ενώ δρα συμπληρωματικά στη μερική έλλειψη της χολίνης.<sup>144,242</sup>

Σε περιπτώσεις έλλειψης χολίνης, χρησιμοποιείται μερικώς η μεθειονίνη για την παραγωγή της. Όταν όμως η έλλειψη της χολίνης είναι παντελής, τότε η μεθειονίνη δεν μπορεί να την υποκαταστήσει. Η απουσία χολίνης διαταράσσει την σύνθεση της φωσφατιδυλοχολίνης στο ήπαρ, η οποία με την σειρά της επηρεάζει την έκκριση των λιπαρών οξέων, αφού δεν συντίθεται η *VLDL*. Τελικά, συσσωρεύονται τριγλυκερίδια στο κυτταρόπλασμα του ηπατοκυττάρου και αναπτύσσεται ηπατική στεάτωση.<sup>146,242-244</sup> Η διατροφή με δίαιτα ελεύθερη χολίνης προκαλεί σοβαρή χρονοεξαρτώμενη ηπατική στεάτωση, που χαρακτηρίζεται από φλεγμονή, χωρίς ίνωση, ενώ σε παρατεταμένη σίτιση μπορεί να προκληθεί ακόμα και νεοπλασία.<sup>144,245-247</sup>

Στην δίαιτα ελεύθερη χολίνης παρατηρούνται μεταβολές που μοιάζουν σημαντικά με το μεταβολικό σύνδρομο, με την ανάπτυξη παχυσαρκίας,



δυσλιπιδαιμίας και αντίστασης στην ινσουλίνη μετά από 7-12 εβδομάδες σίτισης. Σημαντική διαφορά που παρατηρείται σε αυτό το πειραματικό μοντέλο στεάτωσης, με δίαιτα ελεύθερη χολίνης και μεθειονίνης, στους επίμους σε σχέση με τον άνθρωπο είναι η απουσία αντίστασης στην ινσουλίνη.<sup>144,244,248-250</sup> Η διατροφή ελεύθερη χολίνης και χολίνης/μεθειονίνης σε επίμους *Wistar* προκαλεί σε μια εβδομάδα, μικροκενοτοπιώδη ηπατική στεάτωση, κυρίως στη Ζώνη III, ενώ μετά από 3-5 εβδομάδες παρατηρείται σταδιακή ανάπτυξη φλεγμονής. Μετά την 7<sup>η</sup> εβδομάδα, παρατηρείται και έντονη μακροκενοτοπιώδης ηπατική στεάτωση. Η βιοχημική μελέτη καταδεικνύει την ήπια αύξηση των τρανσαμινασών *AST/ALT*, αμετάβλητες τιμές ή μικρή μείωση για τη γλουταθειόνη, καθώς και αύξηση των προφλεγμονωδών κυτοκινών *IL1β*, *IL6* και *TNFα*.<sup>144,244,248-250</sup>

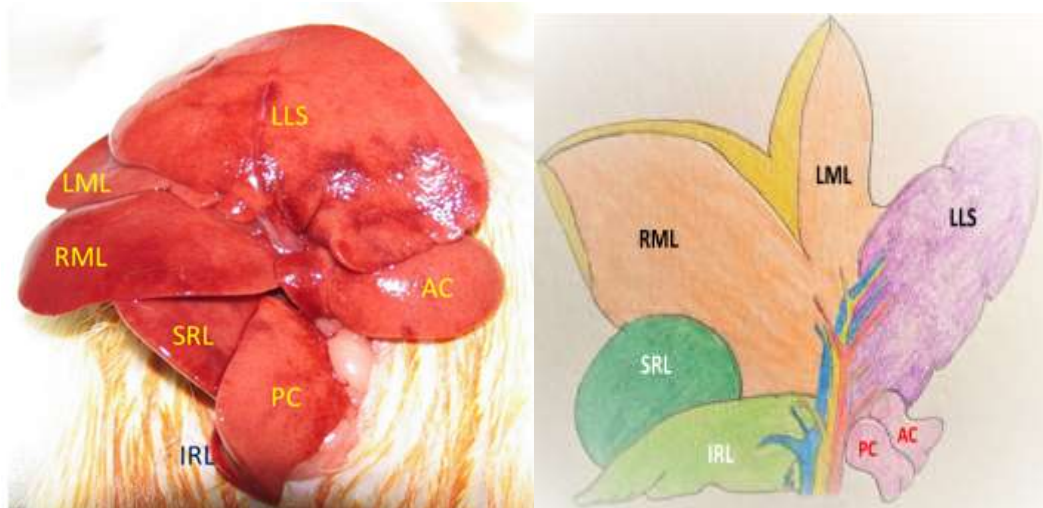
Η λειτουργία των μιτοχονδρίων διατηρείται σε μειωμένα, αλλά ικανοποιητικά επίπεδα, παρά τη μειωμένη απόδοση οξειδωτική φωσφορυλίωση, ενώ η αναγέννηση του ήπατος μετά από ηπατεκτομή δεν επηρεάζεται σημαντικά σε επίμους *Wistar*. Τα συγκεκριμένα μοντέλα επιτυγχάνουν την ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης και την εξέλιξή της σε στεατοηπατίτιδα ανάλογα με τη διάρκεια σίτισης. Όμως, η δίαιτα ελεύθερη χολίνης/μεθειονίνης δεν προκαλεί αντίστοιχη μεταβολική επιβάρυνση (υπεργλυκαιμία, υπερλιπιδαιμία, αντίσταση στη ινσουλίνη), όπως η δίαιτα ελεύθερη μόνο χολίνης. Η τελευταία τελικά, κρίνεται ως η πλέον κατάλληλη για την ανάπτυξη αξιόπιστων μοντέλων για τη μελέτη των συνεπειών της ηπατικής στεάτωσης, της φλεγμονής και του οξειδωτικού stress στο ήπαρ, σε συνδυασμό με τις διαταραχές του μεταβολικού συνδρόμου και της FLD.<sup>144,251-255</sup>

## 5.2 Βασική ανατομική του ήπατος στους επίμους

Στους επίμους *Wistar* το ήπαρ καταλαμβάνει σχεδόν όλο το άνω τριτημόριο της κοιλιακής κοιλότητας, αντιστοιχεί στο 5-8% του συνολικού βάρους σώματος, είναι πολυλοβωτό, εύθρυπτο, ελαστικής σύστασης και με καστανέρυθρη χροιά.<sup>232,256</sup> Σε φυσιολογικούς επίμους βάρους 250-350gr, το βάρος αντιστοιχεί σε 13-19gr, ενώ σε επίμους με ηπατική στεάτωση και

βάρος 480-550gr, το βάρος αντιστοιχεί σε 24-28gr. Το ήπαρ στους επίμυες εμφανίζει θεωρητικά τρεις επιφάνειες, που χωρίζονται μεταξύ τους με τρία οξεία σχηματιζόμενα χείλη. Θεωρητικά οι τρεις επιφάνειες είναι οι άνω, κάτω και οπίσθια, πρακτικά όμως, κάθε λοβός του ήπατος στους επίμυες έχει διαφορετικές επιφάνειες, με τελικό αποτέλεσμα να υπάρχουν τουλάχιστον 3-4 επιφάνειες για κάθε λοβό. Η άνω επιφάνεια είναι κυρτή, βρίσκεται σε άμεση επαφή με το διάφραγμα και σχηματίζεται κυρίως από την άνω επιφάνεια του μέσου λοβού και το αριστερό τμήμα του πλάγιου λοβού. Καλύπτεται εξ'ολοκλήρου από περιτόναιο και φέρει την γραμμή πρόσφυσης του δρεπανοειδούς λοβού, που χωρίζει το μέσο λοβό από τον πλάγιο. Οι δυο αυτοί λοβοί είναι οι μεγαλύτεροι του ηπατικού παρεγχύματος στους επίμυες και σχεδόν ισότιμοι σε μέγεθος.<sup>256</sup>

Η κατώτερη επιφάνεια είναι κοίλη και έρχεται σε άμεση επαφή με τα σπλάγχνα του πεπτικού σωλήνα (τμήμα του οισοφάγου, στόμαχο, δωδεκαδάκτυλο, λεπτό και παχύ έντερο), το πάγκρεας, το δεξιό νεφρό και το επινεφρίδιο. Στο ήπαρ του επίμυος δεν υπάρχει ο κυστικός σχηματισμός της χοληδόχου κύστεως. Η οπίσθια επιφάνεια δεν καλύπτεται από περιτόναιο, όπως και στον άνθρωπο, ερχόμενη σε άμεση επαφή με το διάφραγμα και τμήμα του κοιλιακού οισοφάγου. Η πορεία της κάτω κοίλης φλέβας είναι εντελώς ενδοηπατική, διερχόμενη ως επί το πλείστον από τα οπίσθια τμήματα, εγγύς της οπίσθιας επιφάνειας όλων των ηπατικών λοβών.<sup>256</sup> Οι λοβοί του ήπατος στους επίμυες είναι τέσσερις και διακρίνονται με βάση την πυλαία αγγείωση της κατώτερης επιφάνειας, παρότι δεν υπάρχει κοινή σαφώς καθοριζόμενη πύλη για όλους του ηπατικούς λοβούς. Η πυλαία αγγείωση (κλάδος της πυλαίας φλέβας, της ηπατικής αρτηρία και του χοληφόρου συστήματος), εισέρχεται από ξεχωριστή πύλη σε κάθε λοβό. Οι σαφώς αφοριζόμενοι ανατομικά λοβοί είναι ο μέσος, ο δεξιός πλάγιος, ο αριστερός πλάγιος και ο κερκοφόρος λοβός (*Εικόνα 6*).<sup>256</sup>



**Εικόνα 6.** Βασική διάκριση των ηπατικών λοβών στους επίμυες. Μέσος Λοβός (Δεξιό και Αριστερό Ηπατικό τμήμα- LML / RML), Δεξιός πλάγιος λοβός (Άνω και Κάτω Ηπατικό τμήμα –SRL/IRL), Αριστερός πλάγιος Λοβός (LLL) και ο κερκοφόρος λοβός (Πρόσθιο και Οπίσθιο ηπατικό τμήμα –AC/PC).

Ο μέσος λοβός κατέχει το 35-42% του συνολικού βάρους του ήπατος, αποτελώντας τον μεγαλύτερο λοβό και συνέχεια στον αριστερό πλάγιο λοβό με όριο την πρόσφυση του δρεπανοειδούς συνδέσμου. Καταλαμβάνει την μεγαλύτερη επιφάνεια του διαφράγματος και του πρόσθιου κοιλιακού τοιχώματος. Διαιρείται με την πρόσθια ομφαλική σχισμή σε δεξιό και αριστερό μέσο λοβό. Σε μέγεθος (30-32%) ακολουθεί ο αριστερός πλάγιος λοβός με σχήμα ρόμβου μοιράζεται με τον μέσο λοβό το επιγάστριο και καταλαμβάνει την διαφραγματική και πρόσθια επιφάνεια του αριστερού υποχονδρίου. Ο δεξιός πλάγιος ηπατικός λοβός αντιστοιχεί στο 20-22% του ηπατικού παρεγχύματος, βρίσκεται δεξιά της κάτω κοίλης φλέβας και στο κατώτερο και οπίσθιο τμήμα του δεξιού υποχονδρίου καλυπτόμενος εκ των άνω, σχεδόν εξ' ολοκλήρου από τον μέσο λοβό. Διακρίνεται σε δυο σαφώς αφοριζόμενα τμήματα με οριζόντια αύλακα τον άνω δεξιό πλάγιο και τον κάτω δεξιό πλάγιο λοβό. Τέλος, ο κερκοφόρος λοβός που βρίσκεται αριστερά της πυλαίας και της κάτω κοίλης φλέβας, πίσω και κάτω από τον αριστερό πλάγιο λοβό, αντιστοιχεί μόλις στο 6-10% του ηπατικού παρεγχύματος. Διαιρείται στην κερκοφόρο απόφυση που περιβάλλει πλήρως το αρχικό κατώτερο τμήμα της κάτω κοίλης φλέβας κατά την είσοδό της στο ηπατικό παρέγχυμα και τον λοβό του Spiegel, που διαιρείται σε πρόσθιο και οπίσθιο τμήμα.<sup>208,256</sup> Το ήπαρ του επίμυος παρουσιάζει

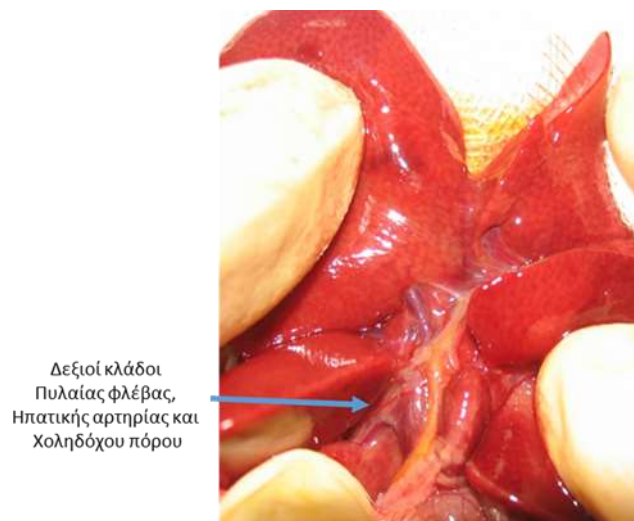
αρκετές ομοιότητες στην στήριξή του με του ανθρώπου. Έχει και αυτό πέντε συνδέσμους που το στηρίζουν στο διάφραγμα, το κοιλιακό τοίχωμα και στα σπλάγχνα. Ο δρεπανοειδής, ο στεφανιαίος, οι δύο τρίγωνοι και ο στρογγύλος το στηρίζουν στο διάφραγμα και στο πρόσθιο και οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα. Ο ηπατογαστρικός και ο ηπατοδωδεκαδακτυλικός σύνδεσμος το στηρίζουν στο στόμαχο και το δωδεκαδάκτυλο αντίστοιχα. Είναι όμως σημαντική και η στήριξη του ήπατος από την ενδοπαρεγχυματικά φερόμενη κάτω κοίλη φλέβα.<sup>256</sup>

Η αγγείωση του ήπατος στους επίμυες πραγματοποιείται από αγγεία, που αντίστοιχα με τον άνθρωπο, αναγνωρίζονται ως ηπατική αρτηρία, πυλαία φλέβα, ηπατικές φλέβες και κάτω κοίλη φλέβα. Η ηπατική αρτηρία είναι κλάδος της κοιλιακής αρτηρίας που εκφύεται από την κοιλιακή αορτή, κάτωθεν του διαφράγματος.<sup>256,257</sup> Η ηπατική αρτηρία, αφού χορηγήσει γαστροδωδεκαδακτυλική αρτηρία, συνεχίζει την πορεία της μαζί με την πυλαία φλέβα και πίσω από αυτή. Χορηγεί δε κλάδους ανεξάρτητους για όλους τους λοβούς του ήπατος (*Εικόνα 9*). Η εξωηπατική μοίρα της πυλαίας φλέβας σχηματίζεται από την συμβολή της άνω μεσεντερίου φλέβας, της γαστροσπληνικής και της γαστροδωδεκαδακτυλικής φλέβας.<sup>256</sup>

Στους επίμυες, η πυλαία διαιρείται σε τρεις κλάδους, που πορευόμενοι επί της κάτω επιφανείας του ήπατος, σχηματίζουν τρεις αύλακες, την δεξιά αύλακα που χωρίζει το δεξιό πλάγιο και το μέσο λοβό, την κύρια αύλακα που χωρίζει το μέσο λοβό σε δεξιό και αριστερό και την αριστερή αύλακα, που χωρίζει τον αριστερό πλάγιο από τον κερκοφόρο λοβό (*Εικόνα 9*).<sup>256-258</sup> Η φλεβική αποχέτευση του ήπατος στους επίμυες είναι εξαιρετικά πολύπλοκη, γιατί είναι ασταθής και σε πολλές περιπτώσεις ένας λοβός μπορεί να αποχετεύεται με περισσότερες από μια ηπατικές φλέβες. Συνολικά το φλεβικό αίμα αποχετεύεται στην ενδοηπατική κάτω κοίλη φλέβα των επίμυων. Ο άνω δεξιός και ο κάτω δεξιός λοβός αποχετεύονται με έναν ή δυο κλάδους στην κάτω κοίλη φλέβα. Ο μέσος λοβός αποχετεύεται με 2-3 φλέβες, επίσης στην κάτω κοίλη φλέβα. Συχνή παραλλαγή παρατηρείται στο αριστερό τμήμα του μέσου λοβού που

μπορεί να δίνει κοινή φλεβική αποχέτευση με τον αριστερό πλάγιο λοβό. Τέλος, ο αριστερός πλάγιος λοβός και ο κερκοφόρος αποχετεύονται ξεχωριστά στην κάτω κοίλη.<sup>256-258</sup>

Η αποχέτευση της χολής ακολουθεί την πορεία των κλάδων της πυλαίας φλέβας και ο κοινός χοληδόχος πόρος εκβάλλει στο δωδεκαδάκτυλο, μετά από πορεία στον ηπατοδωδεκαδακτυλικό σύνδεσμο και το υποτυπώδες πάγκρεας του επίμουσ. Συνολικά το εξωηπατικό χοληφόρο σύστημα δημιουργείται από τους χοληφόρους κλάδους των επιμέρους λοβών του ήπατος, μιας και ο κάθε λοβός έχει δικό του αποχετευτικό χοληφόρο κλάδο (Εικόνα 7). Εξαίρεση αποτελεί ο αριστερός πλάγιος λοβός που στα 2/3 των περιπτώσεων χορηγεί δύο ξεχωριστούς χοληφόρους κλάδους. Η τελική συνένωση των επιμέρους χοληφόρων πόρων στον κοινό χοληδόχο πόρο, πραγματοποιείται στο ύψος της κερκοφόρου απόφυσης.<sup>256,257</sup>



**Εικόνα 7.** Τα ηπατικά αγγεία για τα τμήματα του δεξιού πλάγιου ηπατικού λοβού είναι ευδιάκριτα και εύκολα παρασκευαζόμενα, επιτρέποντας την πραγματοποίηση χειρισμών αγγειακού αποκλεισμού, είτε για την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης (IRI), είτε για την διενέργεια χειρισμών τμηματικής ηπατικής ισχαιμικής προσαρμογής (IPC)

### 5.3 Χειρισμοί πρόκλησης Βλάβης Ισχαιμίας-Επαναιμάτωσης και Ισχαιμικής Προετοιμασίας σε επίμους

Η πρόκληση βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης, όπως και οι διάφοροι χειρισμοί προστασίας από αυτή, έχουν διερευνηθεί και χρησιμοποιηθεί σε

αρκετές πειραματικές μελέτες. Τα κύρια ζωικά πρότυπα που έχουν χρησιμοποιηθεί είναι επίμυες, λόγω μεγέθους σώματος, μεγαλύτερης ανοχής στην ισχαιμία και καλύτερων ανατομικών σχέσεων και μεγεθών, που επιτρέπουν την ασφαλέστερη χειρουργική παρασκευή και την εκτέλεση χειρουργικών χειρισμών στο ήπαρ. Επίσης, τα μοντέλα ηπατικής στεάτωσης στους επίμυες, ειδικά με διατροφή (ελεύθερη χολίνης, υπερλιπιδική), αποδίδουν σε μεγάλο βαθμό την εικόνα της λιπώδους ηπατικής διήθησης και ανάλογου βαθμού ηπατικές παρεγχυματικές βλάβες.<sup>144,154,229,231,233,240-257</sup>

Βασικό χαρακτηριστικό της βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης στους επίμυες, είναι η εκτεταμένη ηπατοκυτταρική νέκρωση που παρατηρείται στην παρατεταμένη ισχαιμία, ιδιαίτερα όταν αυτή υπερβαίνει τα 30 λεπτά. Από τις μελέτες σε φυσιολογικούς επίμυες, διάρκεια ισχαιμίας 45-60 λεπτών είναι ανεκτή ικανοποιητικά, επιτρέποντας την επιβίωση για ικανοποιητικό χρονικό διάστημα. Η ίδια ανθεκτικότητα όμως, σε καμία περίπτωση δεν αποδεικνύεται στους επίμυες με ηπατική στεάτωση, οι οποίοι σε ισχαιμίες του ηπατικού παρεγχύματος μεταξύ 30-45 λεπτών επιβιώνουν το πολύ μέχρι 16-24 ώρες, ενώ σε ισχαιμίες διάρκειας μέχρι 60 λεπτά δεν επιβιώνουν περισσότερο από 2-6 ώρες. Άλλο βασικό χαρακτηριστικό των επίμυων με ηπατική στεάτωση είναι η σε μεγαλύτερο βαθμό ηπατοκυτταρική νέκρωση, η εντονότερη ισχαιμική και φλεγμονώδης παρεγχυματική βλάβη και η ταχύτερη επέλευση των βλαβών.<sup>32,36,50,51,58,69,109,117,119,124,129,135,155,189</sup>

Ο χειρισμός της της ισχαιμικής προετοιμασίας (*IPC*) του ήπατος έχει εφαρμοσθεί επιτυχώς σε πολλές πειραματικές μελέτες με τη χρήση επίμυων, αποδεικνύοντας σε μεγάλο βαθμό τον προστατευτικό ρόλο που μπορεί να διαδραματίσει στην βλάβη μετά από ισχαιμία - επαναιμάτωση στο ήπαρ. Συνήθως πραγματοποιούνται μικρής διάρκειας 5-15 λεπτών περιόδοι ισχαιμίας, ακολουθούμενες από περιόδους 10-30 λεπτών επαναιμάτωσης.<sup>113-115</sup> Οι χειρισμοί *IPC* (1-3 χειρισμοί) εφαρμόζονται άμεσα έως και μια ώρα πριν την πραγματοποίηση των μείζονων χειρουργικών χειρισμών που προκαλούν βλάβη ισχαιμίας επαναιμάτωσης.

Γενικά έχει αποδειχθεί ότι η εφαρμογή των χειρισμών *IPC* προστατεύει το φυσιολογικό ήπαρ από την ισχαιμική βλάβη, αυξάνει τα αποθέματα *ATP*, μειώνει την ευαισθησία των ηπατοκυττάρων στην φάση της επαναιμάτωσης και αυξάνει το ρυθμό απόπτωσης μειώνοντας την εκτεταμένη παρεγχυματική βλάβη.<sup>113,114,115,116,261</sup>

Την ίδια προστασία παρέχει ο χειρισμός *IPC* και στους επίμυες με ηπατική στεάτωση. Η προστατευτική δράση μάλιστα του χειρισμού ξεκινά μετά από 3 ώρες από την πραγματοποίησή του, ενώ δεν έχει διερευνηθεί η κορύφωση της αποτελεσματικότητας της δράσης του. Έχει δε παρατηρηθεί, ότι αυξάνεται το αποτέλεσμα με την ακόμα μεγαλύτερη αύξηση του χρονικού διαστήματος που παρεμβάλλεται μεταξύ ενός επαναλαμβανόμενου χειρισμού *IPC* και της πρόκλησης βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης. Και στους επίμυες με ηπατική στεάτωση βελτιώνεται η ανοχή στην ισχαιμία και η ανθεκτικότητα στην επαναιμάτωση, αυξάνονται τα επίπεδα του ενδοκυττάρου *ATP* και συγχρόνως μειώνεται η έκταση της ηπατοκυτταρικής νέκρωσης και των συνοδών βλαβών της ισχαιμίας και της φλεγμονής.<sup>261,262,266</sup>

Το ηπατικό παρέγχυμα του επίμυος με στεάτωση, καθίσταται ανθεκτικότερο και μπορεί να ανταπεξέλθει σε ισχαιμίες 45-60 λεπτών μετά την εφαρμογή προφυλακτικού χειρισμού *IPC*. Βασική διαφορά με τους φυσιολογικούς επίμυες είναι η ελάχιστη, θα μπορούσε να υποστηριχθεί και η ανύπαρκτη, παρουσία της απόπτωσης. Τα ηπατοκύτταρα με λιπώδη διήθηση μάλλον αδυνατούν να εισέλθουν ή ακόμα καλύτερα να αυτό-προγραμματιστούν σε μια διαδικασία προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου με την επέλευση του βλαπτικού παράγοντα της παρατεταμένης ισχαιμίας, όπως τα φυσιολογικά.<sup>99,101</sup> Η διαδικασία της απόπτωσης που επάγεται στα φυσιολογικά κύτταρα μετά την εφαρμογή του προφυλακτικού χειρισμού *IPC*, μειώνει την τοπική και συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση σε σύγκριση με τη διάχυτη ηπατοκυτταρική νέκρωση και την απελευθέρωση τοξικών κυτταρικών συστατικών και ενζύμων που παρατηρείται στα ηπατοκύτταρα με λιπώδη διήθηση.<sup>99,101,117</sup> Παρόλα αυτά, ο χειρισμός *IPC* δρα σε μεγάλο βαθμό προστατευτικά και στο ήπαρ των επίμυων με στεάτωση, αυξάνοντας την ανθεκτικότητά του και βελτιώνοντας

σημαντικά την επιβίωση σε μελέτες που αφορούν μείζονες χειρουργικές επεμβάσεις και μεταμοσχεύσεις. Συγχρόνως έχει καταδειχθεί και η επίδραση του χειρισμού στα επίπεδα των τρανσαμινασών (*ALT/AST*), του *TNFα*, του *NO* και της *IL6*.<sup>113-117,155,189,261,262,266</sup>



# **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ηπατική στεάτωση (Fatty Liver Disease, FLD) επηρεάζει σημαντικά την έκβαση των ασθενών που υποβάλλονται σε μείζονες χειρουργικές επεμβάσεις στο ήπαρ.<sup>21,144,151,259-263</sup> Ο επιπολασμός της στον ανεπτυγμένο κόσμο υπολογίζεται σε 20-30% του γενικού πληθυσμού, ενώ στον πληθυσμό των παχύσαρκων προσεγγίζει το 95%.<sup>144,152-156,264-265</sup> Ανεύρεται ως τυχαίο νεκροτομικό εύρημα σε ποσοστό 6-25%.<sup>146,155,156</sup> Η ακριβής αιτιολογία της ηπατικής στεάτωσης δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί και βρίσκεται υπό διερεύνηση.<sup>144</sup> Μεταξύ των αιτιολογικών παραγόντων ανήκουν, οι διαιτητικές συνήθειες, η παχυσαρκία, η δυσλιπιδαιμία, ο αλκοολισμός, η ηπατίτιδα, οι μεταβολικές διαταραχές που επάγουν την αντίσταση στην ινσουλίνη (όπως, ο σακχαρώδης διαβήτης και το μεταβολικό σύνδρομο), ενώ αναφέρονται και περιπτώσεις ιδιοπαθούς FLD.<sup>144,146-150</sup>

Τα τελευταία χρόνια, η χειρουργική του ήπατος παρουσιάζει εξαιρετική ανάπτυξη με μείωση της νοσηρότητας και της της μετεγχειρητικής θνητότητας σε ποσοστά 2-5%.<sup>146,189,266-269</sup> Παρά τις σημαντικές εξελίξεις στην χειρουργική του ήπατος, η μετεγχειρητική θνητότητα σε επεμβάσεις που πραγματοποιούνται σε ασθενείς με ηπατική στεάτωση παραμένει σε υψηλά ποσοστά (>14%).<sup>146,186,189,266-273</sup> Η χειρουργική τεχνική σε αυτές τις επεμβάσεις περιλαμβάνει χειρισμούς παρατεταμένης ηπατικής ισχαιμίας που ακολουθείται από επαναιμάτωση (Ischemia Reperfusion, **IR**) και οι οποίοι επιβαρύνουν σημαντικά την επιβίωση.<sup>146,186,271,272,274-278</sup> Οι συγκεκριμένοι χειρισμοί **IR** προκαλούν σημαντικού βαθμού φλεγμονή και ισχαιμική βλάβη.<sup>248,279-281</sup>

Η στέρση του οξυγόνου και των θρεπτικών συστατικών, κατά την ισχαιμική φάση, οδηγεί σε κυτταρική διαταραχή, η οποία δεν αναστέλλεται μετά την επαναιμάτωση, προκαλώντας παθολογική κατάσταση που χαρακτηρίζεται ως βλάβη μετά ισχαιμία – επαναιμάτωση (Ischemia Reperfusion Injury, IRI).<sup>282-285</sup> Στις υπάρχουσες μελέτες οι προτεινόμενοι μηχανισμοί πρόκλησης της βλάβης αφορούν την μιτοχονδριακή

δυσλειτουργία, την αυξημένη υπεροξειδωση των λιπιδίων, την απελευθέρωση τοξικών ριζών, την υπερευαισθησία των ενδοθηλιακών κυττάρων, την δυσλειτουργία των κυττάρων του Kupffer και την αυξημένη απόπτωση των ηπατικών κυττάρων.<sup>186,272,278,283-285</sup> Στο ήπαρ με ηπατική στεάτωση, η **IR** (ισχαιμία-επαναιμάτωση) προκαλεί με τους παραπάνω μηχανισμούς πιο εκτεταμένη βλάβη σε σχέση με το φυσιολογικό ήπαρ, καθώς και καθυστερημένη αποκατάσταση της ηπατικής λειτουργίας.<sup>186,272</sup> Δεδομένο, που αναδεικνύει την ηπατική στεάτωση ως ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα με αρνητική επίδραση στην έκβαση ασθενών που υποβάλλονται σε μείζονες ηπατικές επεμβάσεις.<sup>267,271-273</sup>

Για την μείωση της επίδρασης της βλάβης μετά την ισχαιμία-επαναιμάτωση, έχει χρησιμοποιηθεί ο χειρισμός της διακοπτόμενης ηπατικής ισχαιμίας που οδηγεί σε ισχαιμική προσαρμογή (Ischemic Preconditioning, **IPC**).<sup>190,286-291</sup> Με το χειρισμό **IPC** έχει αποδειχθεί, σε πειραματικές και κλινικές μελέτες, η μείωση της έκτασης της ηπατικής βλάβης, εξαιτίας της ηπατικής ισχαιμίας και της επακόλουθης επαναιμάτωσης, καθώς και η προστατευτική επίδρασή του που οδηγεί σε ταχύτερη αποκατάσταση της ηπατικής λειτουργίας.<sup>194,281-294</sup> Η επίδραση του χειρισμού **IPC** σε περιπτώσεις ηπατικής στεάτωσης, δεν έχει διερευνηθεί ικανοποιητικά.<sup>272,278</sup>

## 2.ΣΚΟΠΟΣ

Είναι γνωστό, ότι η ηπατική στεάτωση αποτελεί ανεξάρτητο επιβαρυντικό παράγοντα για την ηπατική χειρουργική, επιδεινώνοντας την βαρύτητα της ηπατικής βλάβης μέσω του μηχανισμού επαγωγής βλάβης ισχαιμίας - επαναιμάτωσης. Η παρούσα χειρουργική πειραματική μελέτη σκοπό έχει:

**A)** να εκτιμήσει την επίδραση της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας (IPC) στην μεταβολή του ενδογενούς Μονοξειδίου του Αζώτου (NO), της Ιντερλευκίνης 6 (IL-6), του Παράγοντα Νέκρωσης των Όγκων α (TNFα), της Γλουταθειόνης (GSH) και του Γαλακτικού Οξέος, στις βλάβες Ισχαιμίας-Επαναιμάτωσης στο ήπαρ με στεάτωση, συγκριτικά με παράλληλη μελέτη της πιθανής ευεργετικής τους δράσης στο φυσιολογικό ήπαρ και

**B)** να διερευνήσει πιθανολογούμενους υποκείμενους προστατευτικούς μηχανισμούς.

Μελετήθηκε η πιθανή προφυλακτική επίδραση του χειρουργικού χειρισμού της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας (IPC) στην ηπατική βλάβη που προκαλείται μετά από 30 λεπτών ηπατική ισχαιμία για εκτέλεση εκτεταμένης ηπατεκτομής. Η μελέτη αφορούσε την εκτίμηση των μελετώμενων παραμέτρων μετά από 6 ώρες και 24 ώρες επαναιμάτωσης από το πέρας της 30λεπτης ηπατικής ισχαιμίας, σε επίμυες με ηπατική στεάτωση. Βασική πρωτοτυπία της μεθόδου ήταν η πραγματοποίηση ενός τριπλού χειρισμού μηχανικής ισχαιμικής προετοιμασία 24 ώρες πριν την πρόκληση παρατεταμένης 30λεπτης ηπατικής ισχαιμίας, την επακόλουθη επαναιμάτωση και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής. Για τη μελέτη της επίδρασης των χειρουργικών χειρισμών στο ηπατικό παρέγχυμα πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις στον ηπατικό ιστό και στο αίμα των δεικτών του ενδογενούς Μονοξειδίου του Αζώτου (NO), της Ιντερλευκίνης 6 (IL6), του Παράγοντα Νέκρωσης των Όγκων α (TNFα), της Γλουταθειόνης (GSH) και του Γαλακτικού Οξέος (LA). Επίσης, πραγματοποιήθηκε μελέτη των γενικών βιοχημικών δεικτών, όπως τα Τριγλυκερίδια (TG), η Χοληστερόλη (CHOL), τα Ολικά Λιπίδια (TLIP) και των ειδικών βιοχημικών ηπατικών

δοκιμασιών της Ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (*AST-SGOT*), της Αλανινικής αμινοτρανσφεράσης (*ALT-SGPT*), της γ-Γλουταμυλ-Τρανσπεπτιδάσης (*γGT*) και της Αλκαλικής Φωσφατάσης (*ALP*), στο αίμα, καθώς και ιστολογική μελέτη των παρασκευασμάτων.

### 3.1 Ζωικά πρότυπα

Αρσενικοί Wistar επίμυες ηλικίας 12-14 εβδομάδων και βάρους σώματος 250-300 gr, χωρίστηκαν τυχαία σε έξι (6) ομάδες. Οι πρώτες τρεις ομάδες χαρακτηρίστηκαν ως E1, A και B και ελάμβαναν ελεύθερα την τυποποιημένη διατροφή εργαστηρίου (συμπυκνωμένη τροφή με πρωτεϊνική συγκέντρωση 20-27%), ενώ οι υπόλοιπες τρεις ομάδες χαρακτηρίστηκαν ως E2, Γ και Δ και λάμβαναν τροφή ελεύθερη χολίνης (Mucedola, PF1877), με την περιεκτικότητα σε συστατικά που περιγράφεται στον **πίνακα 1**, για 12 – 14 εβδομάδες.<sup>34,55,292,313</sup> Η πρόσβαση στο νερό ήταν ελεύθερη (με ημερήσια κατανάλωση περίπου 10 ml/100 gr ΣΒ), ενώ οι συνθήκες διαβίωσης περιλάμβαναν σταθερή θερμοκρασία περιβάλλοντος (22 °C και υγρασία 60%) και 12ωρο κύκλο εναλλαγής ημέρας-νύχτας (*12-hour light-dark cycle*). Όλοι οι χειρισμοί και το σύνολο του πειράματος εγκρίθηκαν και αδειοδοτήθηκαν από τις υπεύθυνες αρχές (Διεύθυνση Κτηνιατρικής και Αλιείας-τμήμα υγείας ζώων και Κ.Ε. ΑΠ:1633/22-06-2010 και ΑΠ:2659/11-07-2011 και το Εθνικό Κέντρο Επιχειρήσεων Υγείας με ΑΠ:Γ.ΕΚΕΠΥ/2715/21-07-2010) και πραγματοποιήθηκαν σε εγκεκριμένο εργαστήριο (Ερευνητικό και Πειραματικό Κέντρο ΕΛΠΕΝ Α.Ε. με αρ.1-ΕΠ05-1), τηρώντας του κανόνες πειραματισμού και 3Rs (*Replace, Reduce & Refine*), που διέπουν την Ελληνική και Ευρωπαϊκή νομοθεσία. Για την πρωτοτυπία της χειρουργικής μελέτης χορηγήθηκε ερευνητική υποτροφία από το ερευνητικό και πειραματικό κέντρο ΕΛΠΕΝ ΑΕ.

### 3.2 Σχεδιασμός πειράματος

Στην πιλοτική φάση του πειραματισμού διερευνήθηκαν το είδος της τροφής και ο χρόνος πρόκλησης σοβαρής ηπατικής στεάτωσης (>66%), η χρονική διάρκεια της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης που επιτρέπουν επιβίωση >24 ωρών, η έκταση της ηπατεκτομής μετά ισχαιμία, καθώς και ο τύπος της αναισθησίας.<sup>149,150,272</sup> Ηπατεκτομή 60-70% (αφαίρεση του μέσου και

των αριστερών ηπατικών λοβών) μετά την ισχαιμία και επαναιμάτωση ήταν εφικτή και ασφαλής με επιβίωση >24 ωρών.<sup>272</sup>

Έγινε μελέτη της βιβλιογραφίας για τα μοντέλα στεάτωσης και επιλέχθηκε αυτό που στηρίζεται στην διατροφή με έλλειψη χολίνης.<sup>144</sup> Από τα υπάρχοντα δεδομένα η σίτιση 8-10 εβδομάδων οδηγεί σε μέτρια ηπατική στεάτωση, αποφασίστηκε λοιπόν η σίτιση ομάδας 8 αρουραίων με τροφή ελεύθερη χολίνης και η ευθανασία ανά δυο μετά την 8<sup>η</sup> εβδομάδα ανά δυο εβδομάδες (8<sup>η</sup>, 10<sup>η</sup>, 12<sup>η</sup>, 14<sup>η</sup> εβδομάδα) προκειμένου να καθοριστεί η χρονική στιγμή με επίτευξη στεάτωσης του ηπατικού παρεγχύματος σε ποσοστό >66% των ηπατοκυττάρων. Ο επιθυμητός χρόνος που επιτυγχάνεται ποσοστό στεάτωσης >66% είναι μεταξύ των 12-14 εβδομάδων. Μετά το χρονικό αυτό όριο, οι επίμυες μειώνουν σημαντικά την πρόσληψη της τροφής και παρουσιάζουν μέσα στις επόμενες 3-4 εβδομάδες εικόνα βαριάς στεατοηπατίτιδας και κίρρωσης που δεν επιτρέπει την μελέτη των χειρισμών IPC.

Τα αποτελέσματα της πιλοτικής φάσης του πειράματος κατέδειξαν, ότι η παρασκευή και περιοδική διακοπή της πυλαίας κυκλοφορίας στον κύριο δεξιό πυλαίο κλάδο (φλεβικό και αρτηριακό δεξιό πυλαίο κλάδο) είναι εφικτή στην πλειονότητα των ζωικών προτύπων με ικανοποιητική ασφάλεια και ευχέρεια χειρισμών, τόσο στην πρώτη επέμβαση, όσο και στην δεύτερη μετά από 24 ώρες (με την παραμονή ενός οδηγού ράμματος) και την εκτέλεση χειρισμών τύπου Rummel.<sup>278</sup> Επίσης, με την χρήση αγγειακών αγκτήρων (**LIGACLIP Extra Ligating Clips - Open Single Clip Appliers, LT102 και LT202**), πραγματοποιήθηκαν όλες οι εκτεταμένες ηπατεκτομές με απόλυτη ασφάλεια, χωρίς σημαντική αιμορραγία, ούτως ώστε να μην γίνει χρήση διαθερμίας.

Ακολούθησε η διερεύνηση της αναισθητικής μεθόδου, προκειμένου να πραγματοποιηθούν με ασφάλεια όλοι οι χειρισμοί, μιας και το 1/3 των ζωικών προτύπων έπρεπε να υποβληθούν σε δυο επεμβάσεις και τα περισσότερα σε εκτεταμένη ηπατεκτομή. Η ενδομυϊκή και υποδορίως χορηγούμενη αναισθησία με τον συνδυασμό Κεταμίνης (40-80 mg/Kg) - Ξυλαζίνης (5-10 mg/Kg) παρουσίασε αυξημένη μετεγχειρητική θνητότητα



στις ηπατεκτομές που αφορούσαν το 50% του παρεγχύματος, με επιβίωση 60% στις 30 ημέρες για τα ζωικά πρότυπα χωρίς ηπατική στεάτωση.<sup>296</sup> Τα ζωικά πρότυπα με ηπατική στεάτωση, στην ίδια έκταση ηπατεκτομής (50%), παρουσίασαν αυξημένη μετεγχειρητική θνητότητα, με μέγιστη επιβίωση τις 23 ώρες μετά από 50% ηπατεκτομή και τις 21 ώρες μετά από >60% ηπατεκτομή. Η αυξημένη θνητότητα δεν μπόρεσε να αντιμετωπιστεί, ούτε με την χορήγηση αντιδότην (αναστολέων της Ξυλαζίνης: Ατιπαμεζόλη σε δόσεις 0,1-1mg/Kg).<sup>296</sup> Επίσης, έγινε δοκιμή και άλλου σχήματος με ενδομυϊκή και υποδόρια χορήγηση Κεταμίνης – Μεδετομιδίνης (0.25-0.5mg/Kg) και 50% ηπατεκτομή, που επίσης είχε υψηλά ποσοστά άμεσης μετεγχειρητικής θνητότητας (παρά την χορήγηση αναστολέων της Μεδετομιδίνης), με επιβίωση <19 ωρών σε ζωικά πρότυπα με ηπατική στεάτωση και 50% ηπατεκτομή.<sup>296</sup> Με τα ίδια πτωχά αποτελέσματα από πλευράς επιβίωσης δοκιμάστηκαν τα σχήματα Κεταμίνη (75mg/Kg) - Ακετυλοπρομαζίνη (2.5 mg/Kg), Φαιντανύλη (300 μg/Kg) - Μιδαζολάμη (1.25mg/Kg) και Φαιντανύλη (300 μg/Kg) - Μεδετομιδίνη (0.3 mg/Kg).<sup>296</sup> Με τους παραπάνω συνδυασμούς, διερευνήθηκε και το ενδεχόμενο ελλιπούς αναλγησίας και πιθανής υπότασης. Χορηγήθηκαν για τον σκοπό αυτό μικρές δόσεις οπιοειδών αναλγητικών και συγχρόνως έγινε ενδοπεριτοναϊκή και υποδόρια χορήγηση κρυσταλλοειδών, που ούτε αυτά τα μέτρα απέδωσαν στην μείωση της υψηλής άμεσης μετεγχειρητικής θνητότητας.

Τέλος, δοκιμάστηκε εισπνεόμενη αναισθησία με πτητικούς παράγοντες (ισοφλουράνιο - isoflurane) σε μίγμα με οξυγόνο, με πολύ καλά αποτελέσματα μετά από 50% και 60-70% ηπατεκτομή, μικρή διάρκεια αφύπνισης (3-4 λεπτά μετά την διακοπή χορήγησης του ισοφλουρανίου) και ταχεία ανάνηψη με αποκατάσταση της λήψης υγρών και της σίτισης σε 15-30 λεπτά. Επειδή κρίθηκε ασφαλής η αναισθησία με ισοφλουράνιο (isoflurane), επιλέχθηκε ως η αναισθησία για την πραγματοποίηση του πειραματισμού. Όλα τα ζωικά πρότυπα μετά την ανάνηψη διατηρούνταν σε θερμαινόμενο χώρο για τουλάχιστον 2-4 ώρες και τους χορηγούνταν υποδόρια κρυσταλλοειδές διάλυμα δεξτρόζης 5% σε ποσότητα 2ml, για την ταχύτερη κινητοποίησή τους.<sup>296</sup>

### 3.3 Μέθοδος Ηπατικής Στεάτωσης

Η διάρκεια της στεάτωσης για τους αρσενικούς επίμυες (αρχικού βάρους σώματος 250-300gr) τελικά καθορίστηκε από την ομάδα ελέγχου στις 12 – 14 εβδομάδες, με τη χρήση της ειδικής ανασυνδυασμένης τροφής Mucedola - PF1877, ελεύθερης χολίνης. Ειδικότερα, τα βασικά συστατικά της ελεύθερης χολίνης δίαιτας που χορηγήθηκε στα ζωικά πρότυπα για ηπατική στεάτωση περιγράφεται στο ακόλουθο πίνακα (**Πίνακας 1**):

<b>Πίνακας 1</b>	Σύσταση Δίαιτας ελεύθερης χολίνης
<b>Συστατικά</b>	<b>Περιεκτικότητα (gr/Kg ειδικής τροφής)</b>
Alcohol-extracted peanut meal	<b>90</b>
Soy protein isolate	<b>80</b>
L-Cystine	<b>2</b>
Cellulose fiber	<b>10</b>
Dextrin	<b>100</b>
Sucrose	<b>413</b>
Choline bitartrate	<b>-</b>
Vitamin mix	<b>10</b>
Vitamin-free casein	<b>10</b>
Cornstarch	<b>100</b>
Primex (Hydrogenated vegetable oil)	<b>100</b>
Corn oil	<b>50</b>
Salt mix	<b>35</b>

Η μέση κατανάλωση τροφής ελεύθερης χολίνης ανήλθε σε 20.41 gr/ ζωικό πρότυπο, με μέσο ρυθμό ημερήσιας αύξησης του Σωματικού Βάρους (ΣΒ) στα 3.49gr/24 ώρες. Ενδεικτικά, η αντίστοιχη μέση ημερήσια κατανάλωση τυπικής τροφής εργαστηρίου από τους φυσιολογικούς επίμυες ήταν περίπου 16.78 gr/ ζωικό πρότυπο, με μέσο ρυθμό ημερήσιας αύξησης του ΣΒ στα 1.18 gr/24 ώρες. Το εύρος ημερήσιας αύξησης του ΣΒ, για τους επίμυες με ηπατική στεάτωση, κυμάνθηκε από 4.09gr/24ώρες έως 1.714gr/24ώρες (κατά την τελευταία εβδομάδα), με τελικό βάρος σώματος κυμαινόμενο από 528 έως 636gr, σε αντιδιαστολή με τα αντίστοιχης ηλικίας ζωικά πρότυπα χωρίς ηπατική στεάτωση, που το βάρος τους κυμαινόταν από 340 έως 424gr. Το ποσοστό του βάρους του ήπατος στους επίμυες με ηπατική στεάτωση μετά από σίτιση 12-14 εβδομάδων με δίαιτα ελεύθερη χολίνης αντιστοιχούσε στο 4,61±0,43% του συνολικού βάρους σώματος. Αντίθετα στην ομάδα ελέγχου το ποσοστό βάρους του φυσιολογικού ήπατος αντιστοιχούσε μόνο στο 3,8±0,25% του συνολικού βάρους σώματος των επίμυων αντίστοιχης ηλικίας, χωρίς ηπατική

στεάτωση. Μετά τις 12-14 εβδομάδες επιτεύχθηκε λιπώδης διήθηση του ηπατικού παρεγχύματος > 66%, προκαλώντας μετρίου έως σοβαρού βαθμού FLD.<sup>144,153,244,297-299</sup>

### 3.4 Βασικοί πειραματικοί χειρισμοί

Μετά πάροδο 12-14 εβδομάδων σίτισης όλων των ομάδων πραγματοποιήθηκαν οι βασικοί πειραματικοί χειρισμοί. Η ηλικία των επίμυων των ομάδων Ε1, Α και Β (στους οποίους χορηγούνταν η τυπική διατροφή ζώων εργαστηρίου) ήταν 24-26 εβδομάδες και το βάρος σώματος τους  $382\pm 42$  gr, ενώ για τους επίμυες των ομάδων Ε2, Γ και Δ (που τους χορηγούνταν τροφή ελεύθερη χολίνης), η ηλικία κυμαίνονταν επίσης μεταξύ των 24-26 εβδομάδων και το βάρος σώματος  $582\pm 54$ gr (εικόνα 8).



**Εικόνα 8.** Διαφορά σωματικού μεγέθους μεταξύ φυσιολογικών επίμυων (αριστερά) με μέσο σωματικό βάρος  $382\pm 42$  gr και επίμυων με ηπατική στεάτωση (δεξιά) με μέσο βάρος σώματος  $582\pm 54$ gr

#### 3.4.1 Ομάδες ζωικών προτύπων

Ειδικότερα, οι επίμυες ανάλογα με την διατροφή τους για την πρόκληση ηπατικής στεάτωσης και τους χειρισμούς στους οποίους υποβλήθηκαν, ταξινομήθηκαν στις παρακάτω ομάδες, ως εξής:

- **Ε1 ομάδα:** φυσιολογικοί επίμυες (n=18), υποβλήθηκαν σε επέμβαση ελέγχου (Sham operation). Από αυτούς, 6 υποβλήθηκαν σε ευθανασία στις 6 ώρες μετά τον χειρισμό, 6 στις 24 ώρες μετά

τον χειρισμό, ενώ οι υπόλοιποι 6 χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της επιβίωσης.

- **A ομάδα:** φυσιολογικοί επίμυες (n=18), υποβλήθηκαν σε παρατεταμένη ισχαιμία 30 λεπτών των δεξιών ηπατικών λοβών, ακολουθούμενη από επαναιμάτωση και εκτεταμένη ηπατεκτομή των αριστερών και μέσων ηπατικών λοβών. Από τους 18 συνολικά επίμυες, οι 6 υποβλήθηκαν σε ευθανασία στις 6 ώρες επαναιμάτωσης μετά τον χειρισμό της παρατεταμένης ισχαιμίας, 6 στις 24 ώρες επαναιμάτωσης μετά τον χειρισμό, ενώ οι υπόλοιποι 6 χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της επιβίωσης.
- **B ομάδα:** φυσιολογικοί επίμυες (n=18), υποβλήθηκαν σε τρεις επαναλαμβανόμενους χειρισμούς ισχαιμίας 10 λεπτών των δεξιών ηπατικών λοβών, ακολουθούμενους από περίοδο επαναιμάτωσης 20 λεπτών οι δυο πρώτοι και 24 ωρών ο τελευταίος. Μετά από πάροδο 24 ωρών, τα ζωικά πρότυπα υποβλήθηκαν σε επανεπέμβαση με την πραγματοποίηση ενός χειρισμού παρατεταμένης ισχαιμίας 30 λεπτών, ακολουθούμενου από επαναιμάτωση και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής των αριστερών και μέσων ηπατικών λοβών. Από τους 18 συνολικά επίμυες, οι 6 υποβλήθηκαν σε ευθανασία στις 6 ώρες επαναιμάτωσης μετά τον χειρισμό της παρατεταμένης ισχαιμίας, 6 στις 24 ώρες επαναιμάτωσης μετά τον χειρισμό, ενώ οι υπόλοιποι 6 χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της επιβίωσης.

- 

Ομοίως οι ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση είχαν ως εξής:

- **E2 ομάδα:** επίμυες με ηπατική στεάτωση (n=18) υποβλήθηκαν σε επέμβαση ελέγχου (Sham operation). Από αυτούς, 6 υποβλήθηκαν σε ευθανασία στις 6 ώρες μετά τον χειρισμό, 6 στις 24 ώρες μετά τον χειρισμό, ενώ οι υπόλοιποι 6 χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της επιβίωσης.

- **Γ ομάδα:** επίμυες με ηπατική στεάτωση (n=18) υποβλήθηκαν σε παρατεταμένη ισχαιμία 30 λεπτών των δεξιών ηπατικών λοβών, ακολουθούμενη από επαναιμάτωση και εκτεταμένη ηπατεκτομή των αριστερών και μέσων ηπατικών λοβών. Από τους 18 συνολικά επίμυες, οι 6 υποβλήθηκαν σε ευθανασία στις 6 ώρες επαναιμάτωσης μετά τον χειρισμό της παρατεταμένης ισχαιμίας, 6 στις 24 ώρες επαναιμάτωσης μετά τον χειρισμό, ενώ οι υπόλοιποι 6 χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της επιβίωσης.
- **Δ ομάδα:** επίμυες με ηπατική στεάτωση (n=18) υποβλήθηκαν σε τρεις επαναλαμβανόμενους χειρισμούς ισχαιμίας 10 λεπτών των δεξιών ηπατικών λοβών, ακολουθούμενων από περίοδο επαναιμάτωσης 20 λεπτών οι δυο πρώτοι και 24 ωρών ο τελευταίος. Μετά την πάροδο των 24 ωρών τα ζωικά πρότυπα υποβλήθηκαν σε επανεπέμβαση με έναν χειρισμό παρατεταμένης τμηματικής ηπατικής ισχαιμίας 30 λεπτών, ακολουθούμενο από επαναιμάτωση και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής των αριστερών και μέσων ηπατικών λοβών. Από τους 18 συνολικά επίμυες, οι 6 υποβλήθηκαν σε ευθανασία στις 6 ώρες επαναιμάτωσης μετά τον χειρισμό της παρατεταμένης ισχαιμίας, 6 στις 24 ώρες επαναιμάτωσης μετά τον χειρισμό, ενώ οι υπόλοιποι 6 χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της επιβίωσης.

#### **3.4.2 Βασικοί χειρουργικοί πειραματικοί χειρισμοί**

**Αναισθησία-Ανάνηψη:** Η αναισθησία πραγματοποιήθηκε με πτητικό αναισθητικό, ισοφλουράνιο σε μείγμα με οξυγόνο (αναλογία οξυγόνου/ισοφλουρανίου : 98/2). Μετά την αναισθητοποίηση σε κλωβό ατμών ισοφλουρανίου (εικόνα 9), διενεργούνταν διασωλήνωση της τραχείας του ζωικού προτύπου με φλεβοκαθετήρα 16G (εικόνα 10) και ακολουθούσε μηχανικός αερισμός, με συχνότητα 70 αναπνοών/λεπτό και εισπνεόμενο όγκο μείγματος 1ml/100gr ΒΣ.<sup>296</sup>



**Εικόνα 9.** Αναισθητοποίηση σε ειδικό κλωβό ατμών ισοφλουρανίου



**Εικόνα 10.** Διασωλήνωση με χρήση φλεβοκαθετήρα 16G

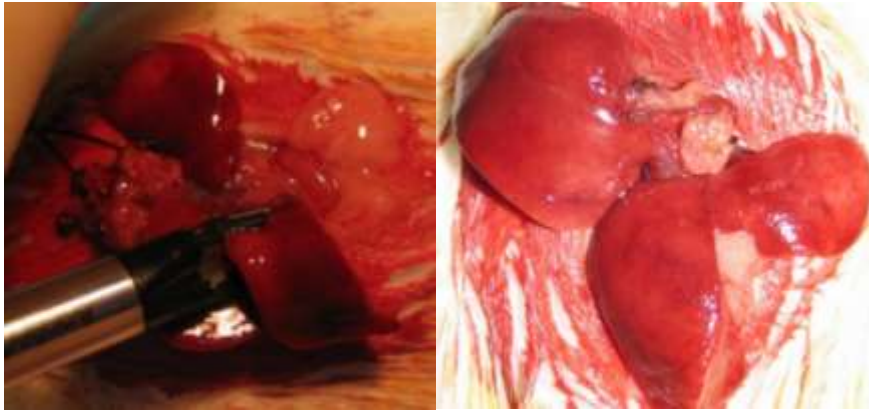
**Αμιγείς Χειρουργικοί χειρισμοί:** Όλοι οι χειρισμοί έγιναν σε αναισθητοποιημένα ζωικά πρότυπα. Όλοι οι επίμυες υποβλήθηκαν σε μέση τομή, μετά από ασηψία της περιοχής.

- **Χειρισμοί ελέγχου (Sham Operation):** Στους επίμυες των ομάδων E1 και E2 πραγματοποιήθηκαν ήπιοι χειρισμοί συλλήψεως του ήπατος με βαμβακοφόρο στυλεό, διερεύνησης της ηπατικής πύλης και σύγκλεισης του κοιλιακού τοιχώματος κατά ανατομική τάξη (εικόνα 11).



**Εικόνα 11.** Χειρισμός ελέγχου (Sham operation). Με τη χρήση βαμβακοφόρου στυλεού πραγματοποίηση χειρισμών στην πύλη του ήπατος.

- **Χειρισμός πρόκλησης Βλάβης Ισχαιμίας – Επαναιμάτωσης (Ischemia – Reperfusion Injury, IRI):** διενεργήθηκε μηχανικός αγγειακός αποκλεισμός στον κοινό αγγειακό μίσχο αιμάτωσης (φλεβικός και αρτηριακός κλάδος) των δυο δεξιών ηπατικών λοβών με χειρισμό Rummel για 30 λεπτά και εν συνεχεία επαναιμάτωση των ισχαιμικών λοβών.<sup>278,300</sup>
- **Χειρισμός Ισχαιμικής Προγύμνασης (Ischemic Preconditioning, IPC):** διενεργήθηκε μηχανικός αγγειακός αποκλεισμός στον κοινό αγγειακό μίσχο αιμάτωσης (φλεβικό και αρτηριακό κλάδο) των δυο δεξιών ηπατικών λοβών με χειρισμό Rummel για 10 λεπτά, που συνοδεύταν από επαναιμάτωση για 20 λεπτά. Ο χειρισμός προγύμνασης επαναλήφθηκε συνολικά 3 φορές και με το πέρας της τρίτης 10λεπτης τμηματικής δεξιάς ηπατικής ισχαιμίας, ακολούθησε επαναιμάτωση της ισχαιμικής περιοχής για 24 ώρες.<sup>261,301,302</sup> Με την επαναιμάτωση έγινε σύγκλιση του κοιλιακού τοιχώματος και οι επίμυες υποβλήθηκαν σε επανεπέμβαση για παρατεταμένη τμηματική ηπατική ισχαιμία 30 λεπτών και διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής μετά από 24 ώρες. Το φυσιολογικό παρέγχυμα μπορεί να επιδρά στις ιστικές ισχαιμικές αλλοιώσεις, όμως σε καμία περίπτωση δεν επιδρά στην ενεργοποίηση των κυτταρικών προστατευτικών μηχανισμών.<sup>132</sup>
- **Διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής:** οι επίμυες των ομάδων Α, Β, Γ και Δ, μετά τον χειρισμό της παρατεταμένης ισχαιμίας για την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης (IRI), υποβάλλονταν σε εκτεταμένη ηπατεκτομή (εκτομή του 60-70% του ηπατικού παρεγχύματος) που περιλάμβανε τον αριστερό λοβό, (left lateral lobe -LLL), τον κερκοφόρο λοβό (caudate lobe-CL) και το δεξιό και αριστερό υποτομήμα του μέσου λοβού (median lobe-LML / RML) του ήπατος του επίμυος (εικόνα 12).<sup>256</sup>



**Εικόνα 12.** Εκτεταμένη ηπατεκτομή (χρήση αγκτήρων) με διατήρηση του δεξιού ηπατικού λοβού(άνω και κάτω υποσημάτων) και ενίοτε του κερκοφόρου λοβού (ποσοστό εκτομής >65-70%).

### 3.5 Δείκτες Μελέτης

Μετρήθηκαν τα επίπεδα των τρανσαμινασών AST (SGOT) και ALT (SGPT), της Αλκαλικής Φωσφατάσης (ALP), της γ-Γλουταμυλ-Τρανσπεπτιδάσης (γGT), των Τριγλυκεριδίων (TG), της Χοληστερόλης (CHOL) και των Ολικών Λιπιδίων (TLIP) στο αίμα. Επίσης, μετρήθηκαν και τα επίπεδα των ειδικών δεικτών-παραμέτρων της μελέτης, της Ιντερλευκίνης 6 (IL6), του Παράγοντα Νέκρωσης των Όγκων α (TNFα), του ενδογενούς Μονοξειδίου του Αζώτου (NO), του Γαλακτικού Οξέος (LA) και της Γλουταθειόνης (ανηγμένη μορφή GSH) στον ηπατικό ιστό και στο αίμα. Τα δείγματα ελήφθησαν σε 6 ώρες και σε 24 ώρες μετά την επαναιμάτωση, κατόπιν ευθανασίας των ζωικών προτύπων. Τα ιστικά δείγματα τοποθετήθηκαν σε

υγρό άζωτο και διατηρήθηκαν σε βαθιά κατάψυξη (-86°C), μέχρι την επεξεργασία τους. Κατά την επεξεργασία τους, μετά από έκπλυση του ιστού με ψυχρό ισοτονικό αλατούχο διάλυμα, πραγματοποιείτο ομογενοποίηση του δείγματος με τη χρήση ρυθμιστικού διαλύματος *Tris* 20 mM pH 7,4 (1 ml ρυθμιστικού διαλύματος για 0,2 gr ιστού) σε αναμικήρα ULTRA-TURRAX (*IKA-Labortechnik*). Τα ομογενοποιημένα ιστικά δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στους 4 °C στις 3000 X g για 10 λεπτά. Ομοίως, τα δείγματα αίματος, φυγοκεντρήθηκαν στις 3000 X g για 10 λεπτά και ο ορός διατηρήθηκε σε βαθιά κατάψυξη (-86°C), μέχρι την επεξεργασία του.



Οι μετρήσεις όλων των δειγμάτων (ιστού και πλάσματος) πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση πιστοποιημένων κιτ, για τον προσδιορισμό του γαλακτικού οξέος (*BioVision Lactate Assay Kit II*), του ενδογενούς NO (*BioVision Nitric Oxide Colorimetric Assay Kit*), της IL6 (*BIOMATIK elisa kit*), του TNFa (*BIOMATIK elisa kit*) και του ανηγμένου κλάσματος της γλουταθειόνης (*BioVision ApoGSHTM Glutathione Colorimetric Assay Kit*). Η μέτρηση των AST (SGOT), ALT (SGPT), της ALP και της γGT έγινε με ενζυμική κινητική μέθοδο, ενώ των τριγλυκεριδίων, της χοληστερόλης και των ολικών λιπιδίων πραγματοποιήθηκε με φωτομετρική μέθοδο.

### **3.6 Ιστολογική εξέταση των παρασκευασμάτων**

Τα ιστικά παρασκευάσματα, που επρόκειτο να μελετηθούν για ιστολογικές μεταβολές, εμβαπτίζονταν σε διάλυμα Φορμόλης 10% (10 ml φορμόλης 100% σε 90 ml ddH<sub>2</sub>O). Κατά την επεξεργασία τους, λαμβάνονταν τομές του ιστών πάχους 10μm, γινόταν η χρώση τους με τον συνδυασμό Αιματοξυλίνης - Ηωσίνης και ακολουθούσε η μελέτη του σε οπτική μεγέθυνση X200. Οι αριστεροί και ο μέσος λοβός αποστέλλονταν μετά την εκτομή τους για την επιβεβαίωση και τον καθορισμό της βαρύτητας της ηπατικής στεάτωσης. Αναφέρονται τα βασικά χαρακτηριστικά επιβεβαίωσης της έκτασης της ηπατικής λιπώδους διήθησης, καθώς και η αναλογία μεταξύ της μικροκενοτοπιώδους (μικροφυσσαλιδώδους) και της μακροκενοτοπιώδους (μακροφυσσαλιδώδους) μορφής της ηπατικής στεάτωσης στις ομάδες ελέγχου E1 και E2.<sup>144,149,186,244</sup> Επίσης, γίνεται περιγραφή των ιστολογικών ευρημάτων από τους χειρισμούς μας στις ομάδες A, B, Γ και Δ (εικόνες 13 και 14).

### **3.7 Στατιστική ανάλυση**

Οι συνεχείς μεταβλητές περιεγράφηκαν χρησιμοποιώντας τις μέσες τιμές, τις τυπικές αποκλίσεις και τις διαμέσους, ενώ οι κατηγορικές με τις συχνότητες και τα αντίστοιχα ποσοστά. Ο έλεγχος της κανονικότητας της κατανομής των μετρήσεων έγινε χρησιμοποιώντας το *Kolmogorov-Smirnov test* και το *normal probability plot*. Χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο της ανάλυσης διακύμανσης κατά 2 παράγοντες χωρίς επαναληπτικές

μετρήσεις ( *two-way ANOVA* ) για να μελετήσουμε τους παράγοντες ισχαιμία, χρόνος και στεάτωση μαζί με την αλληλεπίδρασή τους. Οι πολλαπλές συγκρίσεις έγιναν με το *Bonferroni test*. Όπου υπήρχε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση εφαρμόστηκε το μοντέλο *one-way ANOVA*, προκειμένου οι πολλαπλές συγκρίσεις να γίνουν με το *Bonferroni test*. Η μη παραμετρική ανάλυση, όπου ήταν απαραίτητο, έγινε χρησιμοποιώντας τα *Kruskal-Wallis test* και *Mann-Whitney test*. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πακέτο SPSS (v. 17.00, SPSS Inc, Chicago, IL). Όλα τα test είναι διπλής κατεύθυνσης (*two-sided*). Η τιμή *p-value* <0.05 καθορίστηκε σαν επίπεδο στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση της επιβίωσης με τη χρήση του *Kaplan-Meier plot* (*MedCalc Software log rank tests*).

#### 4. Αποτελέσματα

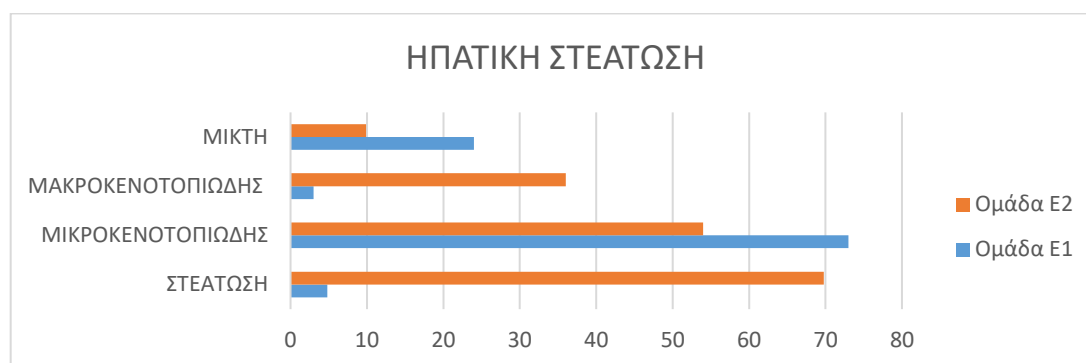
Τα αποτελέσματα από τις μετρούμενες παραμέτρους στον ηπατικό ιστό και στο αίμα από τις έξι ομάδες (E1, E2, A, B, Γ και Δ), στις 6 ώρες και στις 24 ώρες μετά το πέρας των περιγραφόμενων χειρουργικών χειρισμών αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα (*Πίνακας 2*). Η επιβίωση σε όλες τις ομάδες μελετήθηκε με τα τελευταία 6 μέλη από κάθε ομάδα, που δεν υποβλήθηκαν σε ευθανασία στις 6 ή στις 24 ώρες. Η επιλογή των ζωικών προτύπων, που υποβλήθηκαν σε ευθανασία στις 6, στις 24 ώρες ή που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της διάρκειας επιβίωσης ήταν εντελώς τυχαία.

ΤΙΝΑΚΑΣ 2													
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΕΙΡΠΑΜΑΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΕ ΗΠΙΛΤΙΚΟ ΙΣΤΟ ΚΑΙ ΑΜΜΑ													
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΤΟΝ ΗΠΙΛΤΙΚΟ ΙΣΤΟ													
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥΕ1		ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥΕ2		ΟΜΑΔΑ Α		ΟΜΑΔΑ Β		ΟΜΑΔΑ Γ		ΟΜΑΔΑ Δ		
	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours	
IL6 (pg/ml)	8,27±1,83	9,51±1,27	7,01±0,73	8,82±0,99	23,8±0,57	26,3±0,43	26,6±0,76	25,8±1,2	19,1±2,26	25,31±1,92	25,11±1,8	29,32±1,04	
TNFα (pg/ml)	134,56±20	148,02±24,2	148,9±36,3	157,16±27,8	663,3±39,8	689,5±35,2	521,3±28	565±24,8	795,3±38,4	860,5±95,5	569,11±48,2	602,4±35,8	
NO (nmol/ml)	0,023±0,003	0,036±0,007	0,02±0,004	0,023±0,004	0,3±0,0046	0,3±0,0084	0,48±0,023	0,45±0,035	0,102±0,014	0,12±0,017	0,27±0,045	0,317±0,028	
LA (ug/ml)	23±0,88	23,6±0,89	23,5±1,5	23,7±1,6	26,6±0,51	29,1±0,47	26,1±0,32	28,1±0,55	31,4±1,05	31,6±0,47	28,4±1	28,93±1,05	
GSH (ug/ml)	3,73±0,84	4,53±0,72	3,18±1,08	3,75±1,04	6,66±0,8	7,07±0,9	6,65	6,77±0,73	5,26±1,07	6,1±0,66	6,52±0,58	6,67±0,77	
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΤΟ ΑΜΜΑ													
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥΕ1		ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥΕ2		ΟΜΑΔΑ Α		ΟΜΑΔΑ Β		ΟΜΑΔΑ Γ		ΟΜΑΔΑ Δ		
	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours	
IL6 (pg/ml)	0,95±0,25	1,54±0,43	0,8±0,33	1,07±0,2	5,5±0,6	6,1±0,6	8,2±0,27	6,8±0,22	4,5±0,48	5,9±0,64	6,23±0,66	7,65±0,57	
TNFα (pg/ml)	7,95±15,97	97,02±12,98	69,2±13,76	82,74±11,65	271,8±23,2	296,46±28,5	263,4±25,5	292,28±28,4	322,15±30,2	405,2±23,7	282,35±29,9	297,06±18,3	
NO (nmol/ml)	0,85±0,28	1,27±0,37	0,74±0,23	1,13±0,16	4,3±0,32	5,3±0,17	5,8±0,6	5,4±0,7	3,6±0,71	5,1±0,24	5,53±0,67	6,7±0,64	
LA (ug/ml)	58,9±14,1	78,9±12,2	56,4±21,2	78,3±11,4	124,3±1,9	121±1,6	109,8±0,9	119,1±0,6	140,4±2,3	140,85±2,4	115,8±2,7	124,3±6,4	
GSH (ug/ml)	1,66±0,32	1,92±0,45	1,6±0,74	1,77±0,28	5±0,59	5,53±0,61	5,63±0,69	6,78±0,58	3,38±1,51	4,43±0,45	5,27±0,65	6,56±0,68	
AST (U/L)	47±13	57,83±13,82	78,1±11,05	69,7±8,71	670±36	510±48	882±59	672±105	1447±346,7	4379,3±571,9	420,7±28	828,5±133	
ALT (U/L)	48,83±9,8	51,5±7,23	66,5±13,4	70,5±10,3	553±42	459±64	760±76	665,2±48	1514,8±280,2	4612,3±610,9	399,5±32,04	2085,2±467,4	
ALP (U/L)	112,5±23,4	105,6±11,1	107,5±21,9	91,3±10,1	286,5±12,4	317±16,7	248,5±17,66	280,5±19,35	309,5±46,4	356,2±44,6	328,3±58	298,7±64	
VGT (U/L)	0,87±0,26	0,98±0,17	0,9±0,32	1,12±0,17	2,35±0,25	2,62±0,35	1,97±0,21	2,28±0,25	3,95±0,7	6,3±3,5	3,17±0,2	3,6±0,41	
TG (mg/dl)	48,6±12,1	54,5±13,2	52,9±10,96	56,7±6,1	82,5±10,9	84±8,65	72,7±10,4	83,2±7,8	187,8±39,6	189,2±30	68,6±12,1	116,5±10,5	
CHOL (mg/dl)	59,5±10,05	54,5±10,2	62,7±9,2	65,7±14,3	94,8±7,02	86±8,9	66,8±9,3	88,3±6,6	76±20,7	70,8±18,7	64±9,4	89,6±8,3	
TLP (mg/dl)	287,06±51,75	288,6±43,05	248,3±69,3	299,4±71,5	292,5±55,2	398,2±63,9	311,6±49,6	320,6±57,4	325,7±83,6	354±65,4	297,6±429,4	318,6±74,7	

#### 4.1 Τεκμηρίωση της Ηπατικής Στεάτωσης και της επίδρασή της στην ηπατική λειτουργία σε σχέση με το φυσιολογικό ήπαρ

Από την παραμετρική αλλά και την μη παραμετρική μελέτη του ποσοστού της λιπώδους διήθησης μεταξύ των ομάδων E1 και E2 επιβεβαιώθηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ). Στους φυσιολογικούς επίμυες της ομάδας ελέγχου E1 στους οποίους το ποσοστό λιπώδους διήθησεως του ηπατικού παρεγχύματος κυμάνθηκε από  $< 1\%$  έως  $4.5\%$  (μέση τιμή  $1.47\%$ ), ενώ στους επίμυες με ηπατική στεάτωση της ομάδας ελέγχου E2, η λιπώδης διήθηση ήταν  $69.76 \pm 8.71\%$ . Το ποσοστό της μακροκενοτοπιώδους λιπώδους διήθησεως στην ομάδα E2 προσέγγισε το  $53,9\%$  ( $30-60\%$ ) επί της συνολικής λιπώδους διήθησης, το αντίστοιχο της μικροκενοτοπιώδους λιπώδους διήθησεως κατά μέσο όρο ήταν  $36.7\%$  ( $33-65\%$ ), ενώ της μικτής λιπώδους διήθησεως ήταν  $9.94\%$  ( $7-43\%$ ).

Οι τιμές των τρανσαμινασών ALT και AST, καθώς και των ALP και γGT αποτελούν αξιόπιστους δείκτες επιβάρυνσης της ηπατοκυτταρικής λειτουργίας εξαιτίας της λιπώδους ηπατικής διήθησης.<sup>267</sup> Από τη σύγκριση των ομάδων E1 και E2 προέκυψε ισχυρή στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) στις τιμές των ALT και AST, μόνο στις 6 πρώτες ώρες από την επέμβαση ελέγχου (SHAM operation), με τους επίμυες με ηπατική στεάτωση να παρουσιάζουν στις 6 ώρες σημαντικά υψηλότερες τιμές σε σχέση με του φυσιολογικούς επίμυες.



**Σχήμα 1.** Ποσοστό ηπατικής λιπώδους διήθησης μεταξύ των ομάδων ελέγχου E1 (επίμυες που έλαβαν τυποποιημένη διατροφή) και E2 (επίμυες που έλαβαν τροφή ελεύθερη χολίνης). Οι επίμυες που έλαβαν διατροφή ελεύθερη χολίνης ανέπτυξαν ηπατική στεάτωση σε υψηλό ποσοστό  $> 69\%$  των ηπατοκυττάρων.

Για την IL6 στο αίμα παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση ( $p = 0.004$ ) στους επίμυες της ομάδας E1 μεταξύ 6 ωρών και 24 ωρών, καθώς και στις 24 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p = 0.02$ ) μεταξύ της

ομάδας E1 και της ομάδας E2. Για το NO του ηπατικού ιστού, προέκυψε ισχυρή στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0005$ ) αύξηση του μεταξύ των 6 ωρών και των 24 ωρών στους επίμυες της ομάδας E1. Από τη μέτρηση του NO στο αίμα, προέκυψε στατιστικά σημαντική αύξηση, τόσο για την ομάδα E1 ( $p = 0.01$ ), όσο και για την ομάδα E2 ( $p = 0.02$ ), μεταξύ των 6 ωρών και των 24 ωρών. Από την μέτρηση του Γαλακτικού οξέος προέκυψε στατιστικά σημαντική αύξηση, τόσο για την ομάδα E1 ( $p = 0.05$ ), όσο και για την ομάδα E2, μεταξύ των 6 ωρών και των 24 ωρών.

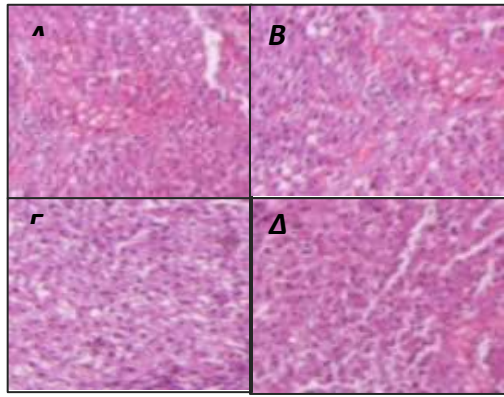
#### **4.2 Αποτελέσματα Ιστοπαθολογικών ευρημάτων**

Η ομάδα ελέγχου E1, που διατρεφόταν με την τυποποιημένη διατροφή εργαστηρίου, δεν παρουσίασε ηπατική στεάτωση, μιας και το μέσο ποσοστό λιπώδους διήθησης των ηπατοκυττάρων δεν ξεπερνούσε το 1.47% (0.5-4.5%). Αυτό το ποσοστό θεωρείται φυσιολογικό, ειδικά όταν αφορά την μορφή της μικροκενοτοπιώδους (μικροφυσσαλιδώδους) λιπώδους διήθησης, η οποία στην ομάδα E1 ήταν 70%, ενώ το υπόλοιπο 30% αφορούσε την μικτή μορφή της ηπατικής στεάτωσης. Δεν παρατηρήθηκε καθόλου νέκρωση, ισχαιμία ή απόπτωση μετά τους χειρισμούς ελέγχου (SHAM operation) στις 6 ώρες ή στις 24 ώρες. Αντίθετα, παρατηρήθηκε ήπια φλεγμονή (μια εστία ουδετεροφιλικής διήθησης) στο 33% των ζωικών προτύπων στις 6 ώρες και στο 16.7% στις 24 ώρες της ομάδας E1.

Η ομάδα ελέγχου E2 που της χορηγήθηκε διατροφή ελεύθερη χολίνης, παρουσίασε σοβαρού βαθμού λιπώδη ηπατική διήθηση, που κατά μέσο όρο ξεπερνούσε το 69.76% των ηπατοκυττάρων, με την μακροκενοτοπιώδη λιπώδη εκφύλιση να υπερβαίνει το 53.9%, ακολουθούμενη από την μικροκενοτοπιώδη (36.7%) και την μικτή (9.94%). Πέραν των λιπιδικών κυστιδίων, εντός των ηπατοκυττάρων παρατηρήθηκαν μεγαμιτοχόνδρια και κυστίδια γλυκογόνου. Δεν παρατηρήθηκε νέκρωση ή συμφόρηση, υπήρχε όμως ήπια εκφυλιστική εικόνα των ηπατοκυττάρων, πιθανώς οφειλόμενη σε αυξημένη απόπτωση, σε πολύ μικρό ποσοστό (2-3%). Συγχρόνως, υπήρχε ήπια φλεγμονώδης διήθηση (1-2 εστίες κυρίως μονοκυτταρικής και σπανιότερα ουδετεροφιλικής διήθησης ανά οπτικό πεδίο) στο 66% των ζωικών προτύπων, τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες μετά τον χειρισμό ελέγχου (Sham operation).

Στην ομάδα Α των φυσιολογικών επίμυων, στους οποίους πραγματοποιήθηκαν χειρισμοί πρόκλησης βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε ηπατοκυτταρική νέκρωση σε ποσοστό 45% των ηπατοκυττάρων, ενώ στο εναπομείναν μη νεκρωμένο ηπατικό παρέγχυμα, το 65% παρουσίαζε αιματική συμφόρηση και ισχαιμία, ενώ το υπόλοιπο εικόνα μέτριας φλεγμονής (4 εστίες φλεγμονής ανά οπτικό πεδίο με μονοκυτταρική και ουδετεροφιλική διήθηση), καθώς και έντονη οιδηματώδη εκφύλιση στο 23% των ηπατοκυττάρων. Στις 24 ώρες, η νέκρωση ανήλθε σε ποσοστό 52.5% με συνοδές παρεγχυματικές συλλογές εξαγγειωμένου αίματος, λόγω ρήξης του ενδοθηλιακού τοιχώματος. Το μη νεκρωμένο ηπατικό παρέγχυμα παρουσίαζε σε ποσοστό περίπου 55% αιματική συμφόρηση και ισχαιμία, σοβαρή φλεγμονή με περισσότερες από 6 εστίες ανά οπτικό πεδίο (με ουδετεροφιλικές διήθησης και αρκετές συναθροίσεις λεμφοκυττάρων). Στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν, σε ποσοστό μικρότερο του 5%, ηπατοκύτταρα σε φάση συρρίκνωσης (πιθανόν υφιστάμενα αποπτωτική διαδικασία θανάτου), καθώς και αποπτωτικά σωμάτια.

Στην ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε χειρισμό IRI, (παρατεταμένης 30λεπτης ηπατικής ισχαιμίας – επαναιμάτωσης) και εκτεταμένης ηπατεκτομής, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε εκτεταμένη ηπατοκυτταρική νέκρωση και κυτταρική λύση σε ποσοστό που προσέγγιζε το 60% του ηπατικού παρεγχύματος. Παράλληλα παρατηρήθηκε μεγάλου βαθμού ηπατική τριχοειδική στάση και ηπατική ισχαιμία, σε ποσοστό περίπου 60-65%. Επίσης, υπήρχε έντονη φλεγμονώδης διήθηση με >10 εστίες λευκοκυτταρικής διήθησης (ισότιμα μονοκυτταρικές και ουδετεροφιλικές) ανά εξεταζόμενο οπτικό πεδίο. Στις 24 ώρες από τον χειρισμό πρόκλησης IRI παρατηρήθηκε ακόμα μεγαλύτερη ηπατοκυτταρική νέκρωση, που κυμάνθηκε σε ποσοστό 75-80% του ηπατικού παρεγχύματος. Συνοδευόταν από εκτεταμένη εικόνα κυτταρικής λύσης, καταστροφής της αρχιτεκτονικής του ηπατικού παρεγχύματος και διάχυτες αιμορραγικές διηθήσεις. Δεν παρατηρήθηκαν αποπτωτικά σωμάτια, ενώ υπήρχε έντονη εικόνα ηπατοκυτταρικής εξοίδησης στο εναπομείναν μη νεκρωμένο ηπατικό παρέγχυμα. Επίσης, υπήρχε έντονη διάχυτη φλεγμονώδης διήθηση από ουδετερόφιλα και ισχαιμία που επεκτεινόταν σχεδόν στο 70-80% του μη νεκρωμένου ηπατικού παρεγχύματος.



**Εικόνα 13.** Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις σε φυσιολογικούς επίμους (χρώση αιματοξυλίνης – ηωσίνης). Εικόνα του ηπατικού παρεγχύματος της ομάδας Α στις 6 ώρες (Α) και στις 24 ώρες (Β) μετά την πρόκληση IRI και τη διενέργεια ηπατεκτομής, καθώς και της Ομάδας Β στις 6 ώρες (Γ) και στις 24 ώρες (Δ) μετά την πρόκληση IRI και τη διενέργεια ηπατεκτομής, αφού όμως 24 ώρες πριν είχε διενεργηθεί μηχανικός προφυλακτικός χειρισμός IPC.

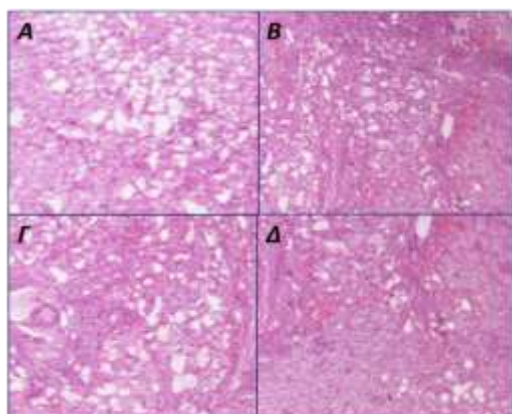
Στην ομάδα Β των φυσιολογικών επίμους, στους οποίους πραγματοποιήθηκε τριπλός προφυλακτικός χειρισμός IPC, 24 ώρες πριν την πρόκληση IRI και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, στις 6 ώρες από την επαναιμάτωση παρατηρήθηκε ηπατοκυτταρική νέκρωση που προσέγγισε το 35%, με εικόνα κυτταρικής λύσης. Το υπόλοιπο ηπατικό παρέγχυμα παρουσίαζε σε ποσοστό 60-65% ισχαιμική στάση, αρκετές περιοχές (περίπου 30-40%) με κυτταρική εξοίδηση και έντονη φλεγμονώδη, κυρίως μονοκυτταρική διήθηση (περίπου 4-5 εστίες ανά οπτικό πεδίο).

Στις 24 ώρες από το πέρας πρόκλησης της IRI και την διενέργεια της ηπατεκτομής, στο ηπατικό παρέγχυμα η νέκρωση κάλυπτε περίπου το 45% του ηπατικού παρεγχύματος, ενώ η ηπατική τριχοειδική στάση και ισχαιμία επεκτεινόταν στο 45% του μη νεκρωμένου ηπατικού παρεγχύματος. Σε ποσοστό <10% παρατηρήθηκε ηπατοκυτταρική εξοίδηση, όπως επίσης σε λίγο μεγαλύτερο ποσοστό (<15%) παρατηρήθηκε ατροφία και συρρίκνωση των ηπατοκυττάρων και διάχυτα αποπτωτικά σωματίδια. Η φλεγμονή παρόλα αυτά παρουσίαζε την ίδια έκταση (περίπου 4-5 εστίες ανά οπτικό πεδίο) και στις 24 ώρες για την ομάδα Β.

Στην ομάδα Δ των επίμους με ηπατική στεάτωση στους οποίους πραγματοποιήθηκε τριπλός προφυλακτικός χειρισμός IPC 24 ώρες πριν την πρόκληση IRI και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε ηπατοκυτταρική νέκρωση που προσέγγισε το 45-50%, με εικόνα εκτεταμένης κυτταρικής λύσης, εντός του νεκρωτικού παρεγχύματος. Το υπόλοιπο ηπατικό παρέγχυμα παρουσίαζε σε ποσοστό 65-70% ισχαιμική στάση, αρκετές περιοχές (περίπου 40-50%) με κυτταρική εξοίδηση και έντονη

φλεγμονώδη, κυρίως μονοκυτταρική διήθηση (περίπου 6-7 εστίες ανά οπτικό πεδίο).

Στις 24 ώρες από το πέρας πρόκλησης της IRI και την διενέργεια της ηπατεκτομής, στο ηπατικό παρέγχυμα η νέκρωση κάλυπτε το 50-55% του ηπατικού παρεγχύματος, ενώ η ηπατική τριχοειδική στάση και ισχαιμία επεκτεινόταν στο 45% του μη νεκρωμένου ηπατικού παρεγχύματος. Σε ποσοστό 15% παρατηρήθηκε ηπατοκυτταρική εξοίδηση, ενώ δεν παρατηρήθηκε καθόλου ατροφία ή αποπτωτικά σωματίδια. Η φλεγμονή παρέμενε στην ίδια έκταση που καταλάμβανε και στις 6 ώρες (6 εστίες ανά οπτικό πεδίο).



**Εικόνα 14.** Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις σε επίμυες με ηπατική στεάτωση (χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης). Εικόνα του ηπατικού παρεγχύματος της ομάδας Γ στις 6 ώρες (Α) και στις 24 ώρες (Β) μετά την πρόκληση IRI και τη διενέργεια ηπατεκτομής, καθώς και της Ομάδας Δ στις 6 ώρες (Γ) και στις 24 ώρες (Δ) μετά την πρόκληση IRI και τη διενέργεια ηπατεκτομής, αφού όμως 24 ώρες πριν είχε διενεργηθεί μηχανικός προφυλακτικός χειρισμός IPC.

Από την στατιστική ανάλυση των βασικών παραμέτρων, αρχικά προέκυψε ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0001$ ) μεταξύ των ομάδων ελέγχου E1 και E2, με πολύ υψηλό ποσοστό ηπατικής στεάτωσης στην ομάδα E2 σε σχέση με την E1. Ομοίως, η μικροκενοτοπιώδης στεάτωση στην ομάδα E1 των φυσιολογικών επίμυων ήταν σε ισχυρώς σημαντικά στατιστικά ( $p < 0.0001$ ) επίπεδα μεγαλύτερη από ότι στην ομάδα E2 των επίμυων με ηπατική στεάτωση, στην οποία αντίθετα κυριαρχούσε η μακροκενοτοπιώδης μορφή της λιπώδους διήθησης σε ισχυρά στατιστικά σημαντικό ( $p < 0.0001$ ) ποσοστό σε σχέση με την ομάδα E1. Επίσης, στην ομάδα E1 παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική ( $p = 0.001$ ) μείωση της φλεγμονής από τις 6 στις 24 ώρες από τον χειρισμό ελέγχου (SHAM operation). Συγχρόνως, η ομάδα E1 παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0001$ ) μειωμένα ποσοστά για την νέκρωση, την ισχαιμία, την εξοίδηση και τη φλεγμονή με τις ομάδες των βασικών πειραματικών χειρισμών (Α, Β, Γ και Δ), τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες.



Ομοίως, η ομάδα E2 παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0001$ ) μικρότερα ποσοστά για την νέκρωση, την ισχαιμία, την εξοίδηση και τη φλεγμονή σε σύγκριση με τις ομάδες του βασικού πειραματισμού (A, B, Γ και Δ), τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες.

Μελετώντας την παράμετρο της παρεγχυματικής νέκρωσης παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.001$ ) υψηλότερα ποσοστά παρεγχυματικής νέκρωσης στην ομάδα A που προκλήθηκε IRI και έγινε ηπατεκτομή, σε σχέση με την ομάδα B που υποβλήθηκε σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC, 24 ώρες πριν την πρόκληση IRI και ηπατεκτομής, στις 6 και τις 24 ώρες. Ομοίως, στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.001$ ) υψηλότερα ποσοστά παρεγχυματικής νέκρωσης παρατηρήθηκαν στην ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση στους οποίους προκλήθηκε IRI και έγινε ηπατεκτομή σε σχέση με την ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση οι οποίοι υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC 24 ώρες πριν την πρόκληση IRI και τη διενέργεια ηπατεκτομής, στις 6 και τις 24 ώρες. Στατιστικά σημαντική ήταν και η διαφορά μεταξύ των ομάδων A (φυσιολογικοί επίμυες) και Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε χειρισμό 30λεπτης ισχαιμίας για την πρόκληση IRI και εν συνεχεία σε ηπατεκτομή. Η ομάδα Γ παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.001$ ) υψηλότερα ποσοστά νέκρωσης στις 6 ώρες και ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0001$ ) υψηλότερα ποσοστά νέκρωσης στις 24 ώρες σε σύγκριση με την ομάδα A. Στατιστικά σημαντική ( $p = 0.002$ ) διαφορά παρατηρείται και μεταξύ των ομάδων B και Δ στις 6 ώρες, με την ομάδα Δ να παρουσιάζει μεγαλύτερο ποσοστό νέκρωσης σε σχέση με την B, η οποία όμως δεν παρατηρείται στις 24 ώρες. Τέλος, μόνο η ομάδα Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση στους οποίους προκλήθηκε IRI και υποβλήθηκαν σε ηπατεκτομή) παρουσίασε στατιστικά σημαντική ( $p = 0.001$ ) αύξηση του ποσοστού νέκρωσης από τις 6 στις 24 ώρες.

Ως προς την παράμετρο της ισχαιμίας παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0001$ ) υψηλότερα ποσοστά παρεγχυματικής ισχαιμίας στην ομάδα A, σε σχέση με την ομάδα B, στις 6 και τις 24 ώρες. Ομοίως, ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0001$ ) υψηλότερα ποσοστά ισχαιμίας παρατηρήθηκαν στην ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση στους οποίους προκλήθηκε IRI και έγινε ηπατεκτομή σε σχέση με την ομάδα Δ των

επίμυων με ηπατική στεάτωση οι οποίοι υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC 24 ώρες πριν την πρόκληση IRI και τη διενέργεια ηπατεκτομής, στις 6 και τις 24 ώρες. Στατιστικά σημαντική ήταν και η διαφορά μεταξύ των ομάδων Α (φυσιολογικοί επίμυες) και Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε χειρισμό 30λεπτης ισχαιμίας για την πρόκληση IRI και εν συνεχεία σε ηπατεκτομή. Η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0001$ ) υψηλότερα ποσοστά ισχαιμίας στις 24 ώρες σε σύγκριση με την ομάδα Α. Τέλος, η ομάδα Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση στους οποίους προκλήθηκε IRI και υποβλήθηκαν σε ηπατεκτομή) παρουσίασε στατιστικά σημαντική ( $p = 0.001$ ) αύξηση του ποσοστού ισχαιμίας από τις 6 στις 24 ώρες, ενώ αντίθετα οι δυο ομάδες που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC (η ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων και η ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση), παρουσίασαν ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0001$ ) μείωση της έκτασης της ισχαιμίας από τις 6 στις 24 ώρες.

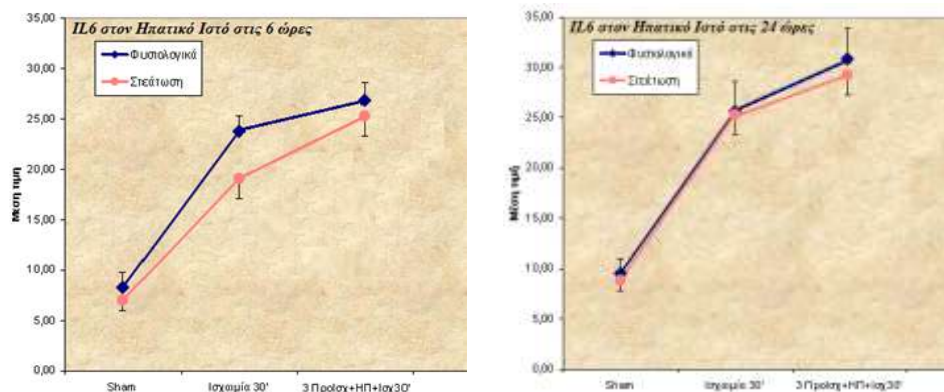
Μελετώντας την παράμετρο της παρεγχυματικής εξοίδησης, μετά την επίδραση της IRI και της ηπατεκτομής, την μεγαλύτερη επιβάρυνση παρουσιάζει η ομάδα Γ, με αφενός στατιστικά σημαντική ( $p = 0.001$ ) διαφορά με την ομάδα Α και αφετέρου ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0001$ ) διαφορά από τις ομάδες Β και Δ, τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες. Τέλος ως προς την μελέτη της φλεγμονής, την μικρότερη ένταση παρουσίασε η ομάδα Ε1, η οποία παρουσίασε και στατιστικά σημαντική μείωση από τις 6 στις 24 ώρες. Επίσης, παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.001$ ) μικρότερα ποσοστά φλεγμονής από την ομάδα Ε2 και ισχυρά στατιστικά ( $p < 0.0001$ ) σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά από τις ομάδες των βασικών χειρισμών (Α, Β, Γ και Δ), τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες. Ομοίως και η ομάδα Ε2 παρουσίασε ισχυρά στατιστικά ( $p < 0.0001$ ) σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά φλεγμονής από τις ομάδες των βασικών χειρισμών (Α, Β, Γ και Δ), τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες. Την μεγαλύτερη έκταση φλεγμονής, η οποία παρέμεινε αμετάβλητη σχεδόν και στις 6 και στις 24 ώρες από την πρόκληση της IRI και τη διενέργεια της ηπατεκτομής, παρουσίασε η ομάδα Γ με τους επίμυες με ηπατική στεάτωση. Συγκεκριμένα η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά ( $p < 0.0001$ ) σημαντικά υψηλότερα ποσοστά παρεγχυματικής φλεγμονής σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες των βασικών χειρισμών (Α, Β και Δ), τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες. Η ομάδα Δ

(επίμυες με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό IPC) παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0001$ ) μείωση του ποσοστού νέκρωσης από τις 6 στις 24 ώρες, καθώς και ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0001$ ) υψηλότερα ποσοστά φλεγμονής σε σύγκριση με την ομάδα Β (φυσιολογικοί επίμυες που υποβλήθηκαν σε προστατευτικό τριπλό χειρισμό IPC) στις 24 ώρες.

### 4.3 Μελέτη των μεταβολών των παραμέτρων

#### 4.3.1 Αποτελέσματα των Μεταβολών της IL6 στον ηπατικό ιστό

Από την μελέτη των μεταβολών της IL6 στον ηπατικό ιστό, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, παρατηρήθηκε μη στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση και παρόμοια διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς, τόσο στις 6 ώρες  $\{F(3.40)=1.77, p=0.169\}$ , όσο και στις 24 ώρες  $\{F(3.40)=0.354, p=0.787\}$ . Άρα, τόσο οι φυσιολογικοί επίμυες όσο και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση μετέβαλλαν με τον ίδιο τρόπο τις τιμές της IL6.

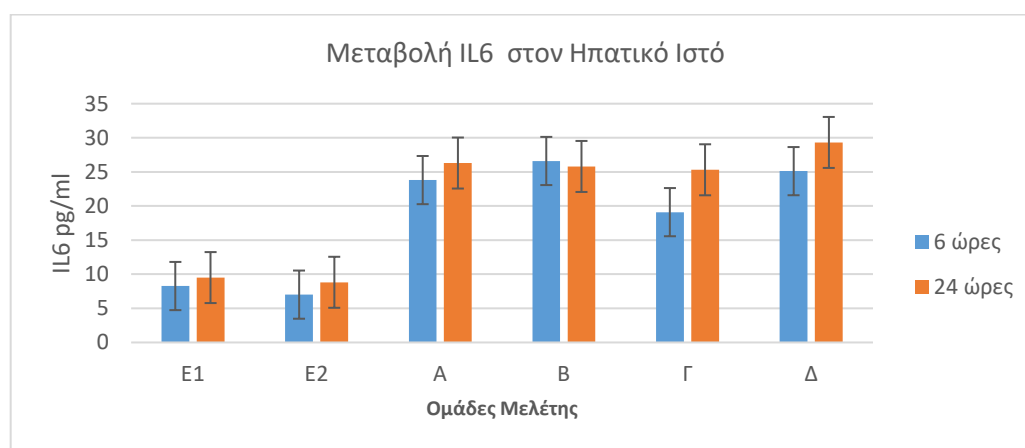


**Σχήμα 2.** Κοινή συμπεριληφτότητα των τιμών της IL6 μεταξύ επίμυων με ηπατική στεάτωση και φυσιολογικών, στον ηπατικό ιστό, στις 6 και 24 ώρες.

Από την συσχέτιση της μεταβολής των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες για κάθε ομάδα ξεχωριστά, εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική ( $p=0.02$ ) αύξηση της IL6 στον ηπατικό ιστό των φυσιολογικών επίμυων της ομάδας ελέγχου E1. Επίσης, στατιστικά σημαντική αύξηση της IL6 στον ηπατικό ιστό από τις 6 ώρες στις 24 ώρες, εντοπίστηκε στην ομάδα Β ( $p=0.004$ ) των φυσιολογικών επίμυων και στην ομάδα Δ ( $p=0.005$ ) των επίμυων με ηπατική στεάτωση, όπου αμφότερες οι ομάδες είχαν υποβληθεί σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC. Επίσης, οι

φυσιολογικοί επίμυες της ομάδας Α, καθώς και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση της ομάδας Γ, παρουσίασαν ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0005$ ) αύξηση της IL6 του ηπατικού ιστού από τις 6 ώρες στις 24 ώρες.

Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B). Ειδικότερα, η ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις υψηλότερες τιμές της IL6 στον ηπατικό ιστό, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ), έναντι των ομάδων Α και E1 στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Αντίθετα, η ομάδα ελέγχου των φυσιολογικών επίμυων E1 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές της IL6 στον ηπατικό ιστό, με επίσης ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων Α και Β.



**Σχήμα 3.** Διακύμανση των τιμών της IL6 στον ηπατικό ιστό στις 6 και 24 ώρες. χαρακτηριστικά υψηλότερες διακυμάνσεις στις ομάδες του προφυλακτικού χειρισμού Β και Δ, σε σχέση με τις ομάδες Α και Γ που υποβλήθηκαν μόνο σε IRI και εκτεταμένη ηπατεκτομή.

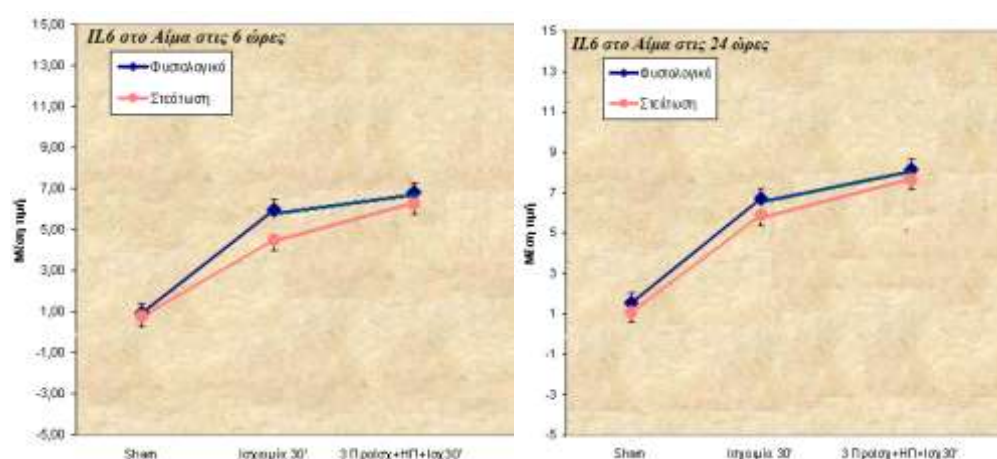
Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε στις 6 ώρες τις χαμηλότερες τιμές της IL6 στον ηπατικό ιστό, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων Γ και Δ, ενώ η ομάδα Δ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές της IL6 στον ηπατικό ιστό, έναντι των ομάδων E2 και Γ.

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά

( $p=0.002$ ) μεταξύ της ομάδας Α (φυσιολογικοί επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή) και της ομάδας Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή), με την ομάδα Γ να παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές της IL6 στον ηπατικό ιστό στις 6 ώρες σε σχέση με την ομάδα Α. Συγκρίνοντας μεταξύ τους τις ομάδες ελέγχου Ε1 και Ε2, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Αξίζει να σημειωθεί, ότι από τη συσχέτιση μεταξύ των ομάδων των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που υποβλήθηκαν στους ίδιους χειρισμούς, στις 24 ώρες δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές ως προς τις τιμές της IL6 του ηπατικού ιστού.

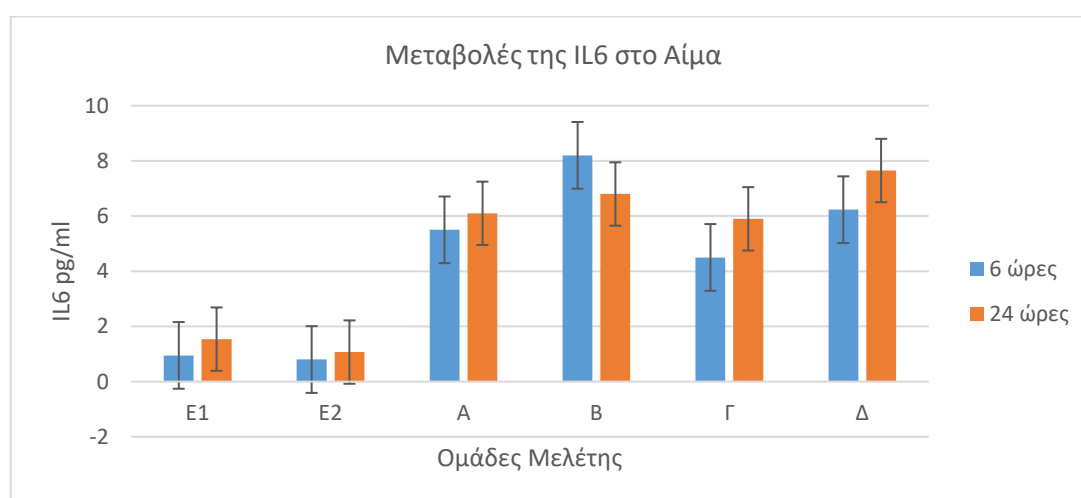
#### 4.3.2 Αποτελέσματα των Μεταβολών της IL6 στο αίμα

Από την μελέτη των μεταβολών της IL6 στο αίμα, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση στην διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς στις 6 ώρες {  $F(3,40)=3.54$ ,  $p =0.023$ } και μη στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση και παρόμοια διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς στις 24 ώρες {  $F(3,40)=0.786$ ,  $p =0.509$ }. Άρα, οι φυσιολογικοί επίμυες και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση μετέβαλλαν με διαφορετικό τρόπο τις τιμές της IL6 στο αίμα στις 6 ώρες και με παρόμοιο τρόπο στις 24 ώρες.



**Σχήμα 4.** Έλεγχος της συμμεταβλητότητας των τιμών της IL6 στο αίμα στις 6 και στις 24 ώρες σε φυσιολογικούς επίμυες και σε επίμυες με ηπατική στεάτωση.

Από την συσχέτιση της μεταβολής των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες για κάθε ομάδα χωριστά, εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική ( $p=0.04$ ) αύξηση της IL6 στο αίμα των φυσιολογικών επίμυων της ομάδας ελέγχου E1 και της ομάδας A, ενώ παρατηρήθηκε ισχυρή στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) αύξηση της IL6 στο αίμα από τις 6 ώρες στις 24 ώρες για τους φυσιολογικούς επίμυες της ομάδας B, που υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC. Ομοίως, ισχυρή στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) αύξηση της IL6 στο αίμα από τις 6 ώρες στις 24 ώρες, παρατηρήθηκε στις ομάδες Γ και Δ με του επίμυες που είχαν υποβληθεί σε ηπατική στεάτωση.



**Σχήμα 5.** Διακύμανση των τιμών της IL6 στο αίμα στις 6 και 24 ώρες. Παρατηρείται σημαντικά μεγαλύτερη διακύμανση των τιμών στις ομάδες B και Δ, που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p<0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B). Ειδικότερα, η ομάδα B των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις υψηλότερες τιμές της IL6 στο αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ), έναντι των ομάδων A και E1 στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Αντίθετα, η ομάδα ελέγχου των φυσιολογικών επίμυων E1 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές της IL6 στο αίμα, με επίσης ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ) έναντι των ομάδων A και B. Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p<0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές της IL6 στον αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική

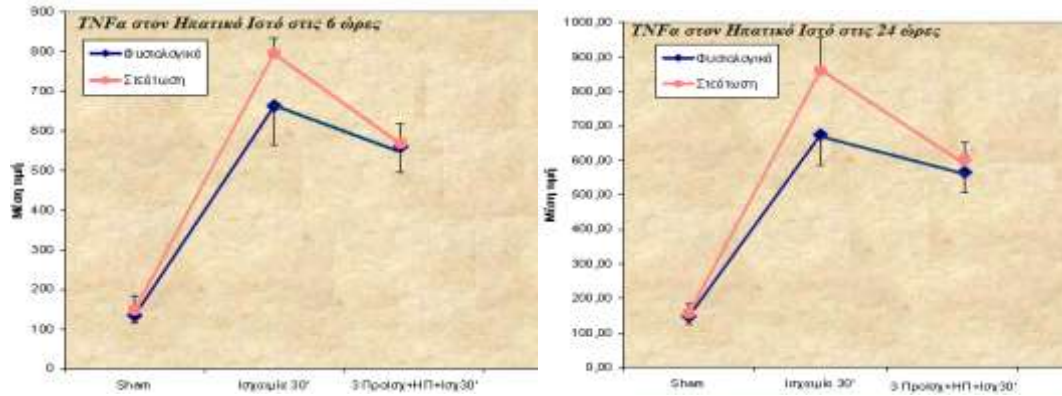
διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων Γ και Δ, ενώ η ομάδα Δ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές της IL6 στο αίμα, έναντι των ομάδων Ε2 και Γ τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες.

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p = 0.002$ ) μεταξύ της ομάδας Α (φυσιολογικοί επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή) και στην ομάδα Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή), με την ομάδα Γ να παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές της IL6 στον ηπατικό ιστό στις 6 ώρες σε σχέση με την ομάδα Α.

Η ομάδα ελέγχου Ε1, στις 24 ώρες παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.018$ ) τις υψηλότερες τιμές της IL6 στο αίμα, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου Ε2. Επίσης η ομάδα Α των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.001$ ) υψηλότερες τιμές της IL6 στο αίμα στις 6 ώρες και οριακά στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.05$ ) υψηλότερες τιμές στις 24 ώρες, σε σύγκριση με την αντίστοιχη ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση. Τέλος, από την σύγκριση μεταξύ των ομάδων των φυσιολογικών επίμυων (ομάδα Β) και των επίμυων με ηπατική στεάτωση (ομάδα Δ) που υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC, δεν προέκυψε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά για τις 6 ώρες ή τις 24 ώρες.

#### **4.3.3 Αποτελέσματα των Μεταβολών του TNFα στον ηπατικό ιστό**

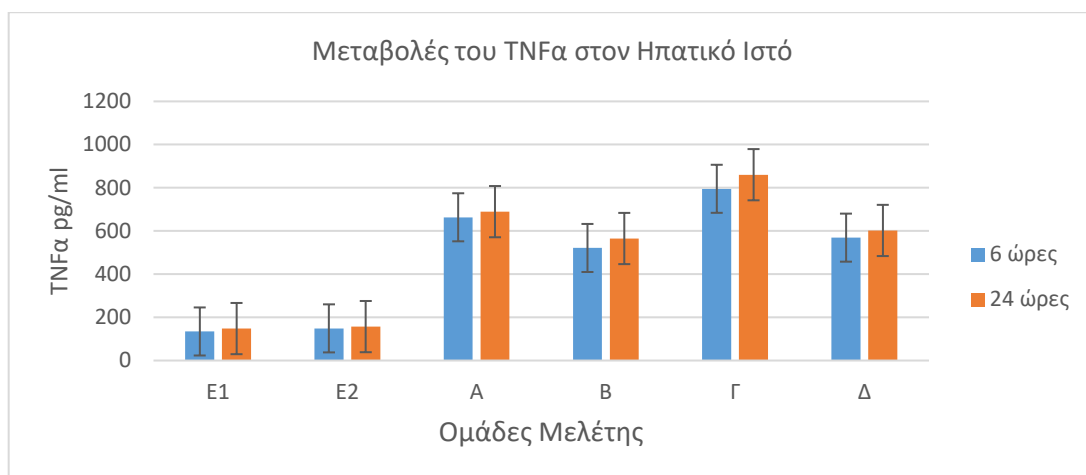
Από την μελέτη των μεταβολών του TNFα στον ηπατικό ιστό, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση και διαφορετική διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς, τόσο στις 6 ώρες  $\{F(3,40) = 3.68, p = 0.020\}$ , όσο και στις 24 ώρες  $\{F(3,40) = 6.06, p = 0.002\}$ . Άρα, τόσο οι φυσιολογικοί επίμυες όσο και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση μετέβαλλαν με διαφορετικό τρόπο τις τιμές TNFα στον ηπατικό ιστό, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες από το πέρας των πειραματικών χειρισμών.



**Σχήμα 6.** Διάγραμμα ελέγχου μεταβλητότητας του TNFα στον ηπατικό ιστό , στις 6 ώρες και στις 24 ώρες, μεταξύ των επίμυων με ηπατική στεάτωση και των φυσιολογικών επίμυων.

Από την συσχέτιση της μεταβολής των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες για κάθε ομάδα ξεχωριστά, εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική ( $p=0.02$ ) αύξηση του TNFα στον ηπατικό ιστό μόνο των επίμυων με ηπατική στεάτωση της ομάδας Γ. Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p<0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B) για τον TNFα του ηπατικού ιστού. Ειδικότερα, η ομάδα A των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις υψηλότερες τιμές του TNFα στον ηπατικό ιστό, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ), έναντι των ομάδων B και E1 στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Αντίθετα, η ομάδα ελέγχου των φυσιολογικών επίμυων E1 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές του TNFα στον ηπατικό ιστό, με επίσης ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ) έναντι των ομάδων A και B. Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p<0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις χαμηλότερες τιμές του TNFα στον ηπατικό ιστό, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ) έναντι των ομάδων Γ και Δ, ενώ η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές του TNFα στον ηπατικό ιστό, έναντι των ομάδων E2 και Δ, τόσο στις 6 όσο στις 24 ώρες.



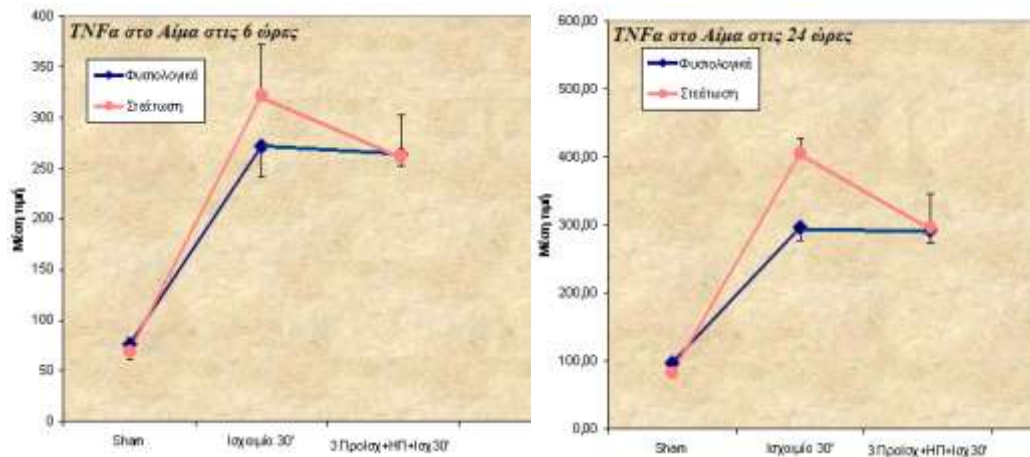


**Σχήμα 7.** Διακύμανση των τιμών του TNFα στον ηπατικό ιστό. Οι ομάδες A και Γ που υποβλήθηκαν μόνο σε IR και ηπατεκτομή, παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερες τιμές TNFα στον ηπατικό ιστό (στις 6 και στις 24 ώρες) σε σύγκριση με τις ομάδες B και Δ που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p=0.01$ ) μεταξύ της ομάδας A (φυσιολογικοί επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή) και στην ομάδα Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή), με την ομάδα A να παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές του TNFα στον ηπατικό ιστό στις 6 ώρες σε σχέση με την ομάδα Γ. Την ίδια στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p=0.01$ ) παρουσιάζουν οι ίδιες ομάδες (A και Γ) συγκρίνοντας τις τιμές του TNFα στον ηπατικό ιστό στις 24 ώρες, με την ομάδα Γ να παρουσιάζει σημαντικά υψηλότερες τιμές.

#### **4.3.4 Αποτελέσματα των Μεταβολών του TNFα στο αίμα**

Από την μελέτη των μεταβολών του TNFα στο αίμα, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση στην διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς στις 6 ώρες {  $F(3.40)=2.61$ ,  $p =0.064$ } και ισχυρά στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση με τους χειρισμούς στις 24 ώρες {  $F(3.40)=14.67$ ,  $p<0.0005$ }. Άρα, οι φυσιολογικοί επίμυες και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση μετέβαλλαν με διαφορετικό τρόπο τις τιμές του TNFα στο αίμα στις 6 ώρες και στις 24 ώρες.

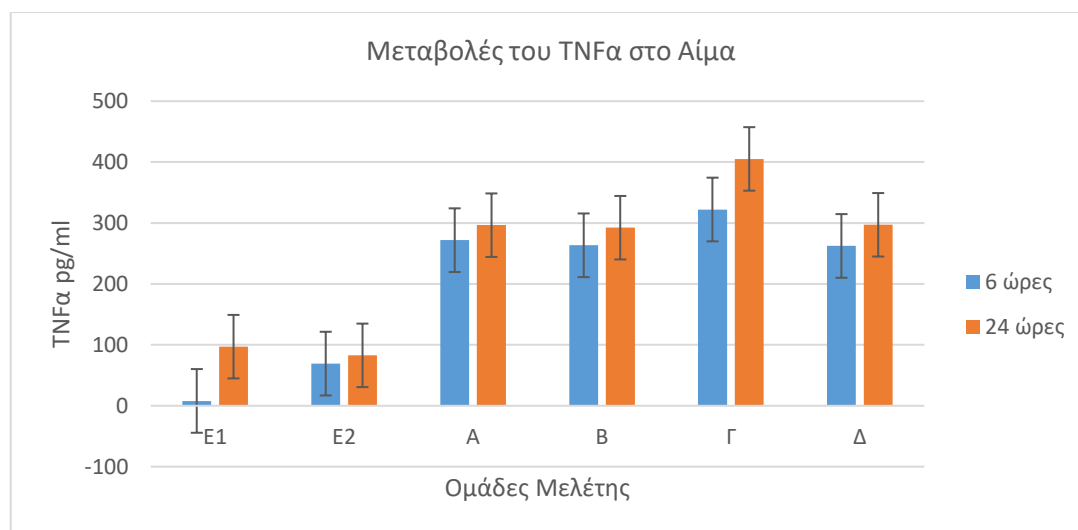


**Σχήμα 8.** Διάγραμμα ελέγχου της μεταβλητότητας του TNFα στο αίμα, στις 6 και 24 ώρες.

Από την συσχέτιση της μεταβολής των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες για κάθε ομάδα χωριστά, εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του TNFα στο αίμα των φυσιολογικών επίμυων της ομάδας A ( $p=0.05$ ) και της ομάδας B ( $p=0.02$ ), από τις 6 ώρες στις 24 ώρες. Ιδιαίτερης αναφοράς χρήζει η ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) αύξηση, από τις 6 ώρες στις 24 ώρες, του TNFα στο αίμα των επίμυων με ηπατική στεάτωση της ομάδας Γ που υποβλήθηκαν μόνο σε χειρισμούς IRI κι ηπατεκτομής.

Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p<0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B). Ειδικότερα, η ομάδα B των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις υψηλότερες τιμές του TNFα στο αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ), έναντι των ομάδων A και E1 στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Αντίθετα, η ομάδα ελέγχου των φυσιολογικών επίμυων E1 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές του TNFα στο αίμα, με επίσης ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ) έναντι των ομάδων A και B. Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p<0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές του TNFα στον αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ) έναντι των ομάδων Γ και Δ, ενώ η ομάδα Δ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές του

TNFα στο αίμα, έναντι των ομάδων Ε2 και Γ τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες.

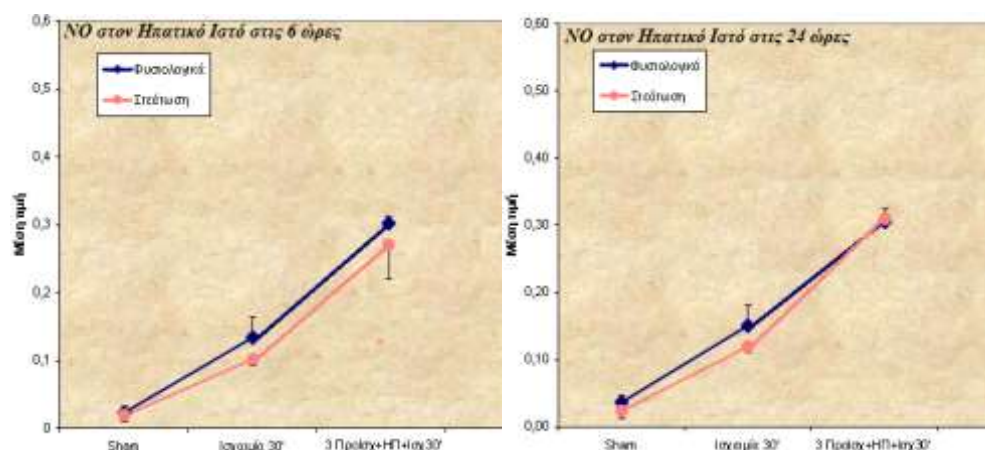


**Σχήμα 9.** Διακύμανση των τιμών του TNFα στο αίμα.

Η ομάδα Α των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p=0.018$ ) υψηλότερες τιμές του TNFα στο αίμα στις 6 ώρες και ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) υψηλότερες τιμές στις 24 ώρες, σε σύγκριση με την αντίστοιχη ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση. Τέλος, από την σύγκριση των τιμών αίματος του TNFα μεταξύ των ομάδων των φυσιολογικών επίμυων (ομάδα Β) και των επίμυων με ηπατική στεάτωση (ομάδα Δ) που υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC, δεν προέκυψε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά για τις 6 ώρες ή τις 24 ώρες.

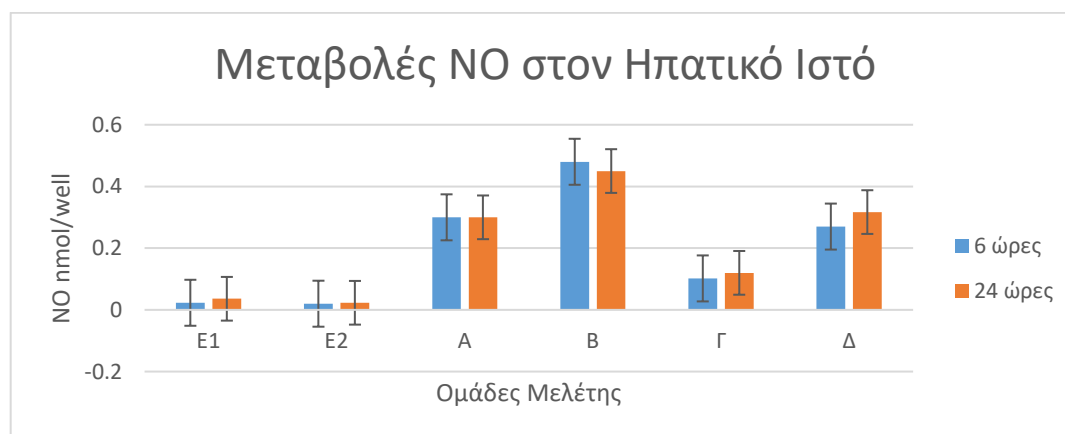
#### **4.3.5 Αποτελέσματα των Μεταβολών του NO στον ηπατικό ιστό**

Από την μελέτη των μεταβολών του NO στον ηπατικό ιστό, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση στη διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς, τόσο στις 6 ώρες  $\{F(3.40)=0.661, p=0.581\}$ , όσο και στις 24 ώρες  $\{F(3.40)=0.496, p=0.687\}$ . Άρα, τόσο οι φυσιολογικοί επίμυες όσο και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση μετέβαλλαν με τον ίδιο τρόπο τις τιμές του NO στον ηπατικό ιστό τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες από το πέρας των πειραματικών χειρισμών.



**Σχήμα 10.** Διάγραμμα ελέγχου της μεταβολητότητας των τιμών του Μονοξειδίου του Αζώτου (NO) στον ηπατικό ιστό, στις 6 και στις 24 ώρες, μεταξύ των επίμυων με ηπατική στεάτωση και των φυσιολογικών.

Από την συσχέτιση της μεταβολής των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες για κάθε ομάδα ξεχωριστά, εντοπίστηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0005$ ) αύξηση του NO στον ηπατικό ιστό για την ομάδα ελέγχου E1 με φυσιολογικούς επίμυες και στατιστικά σημαντική ( $p = 0.01$ ) αύξηση για την ομάδα Δ με επίμυες με ηπατική στεάτωση που είχαν υποβληθεί σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC.



**Σχήμα 11.** Διακύμανση των τιμών του NO στον ηπατικό ιστό.

Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B) για το NO του ηπατικού ιστού. Ειδικότερα, η ομάδα B των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις υψηλότερες τιμές του NO στον ηπατικό ιστό, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ), έναντι

των ομάδων A και E1 στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Αντίθετα, η ομάδα ελέγχου των φυσιολογικών επίμυων E1 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές του NO στον ηπατικό ιστό, με επίσης ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι της ομάδας B και στατιστικά σημαντικής ( $p = 0.001$ ) έναντι της ομάδας B. Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις χαμηλότερες τιμές του NO στον ηπατικό ιστό, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων Γ και Δ, ενώ η ομάδα Δ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές του NO στον ηπατικό ιστό, έναντι των ομάδων E2 και Γ, τόσο στις 6 όσο στις 24 ώρες.

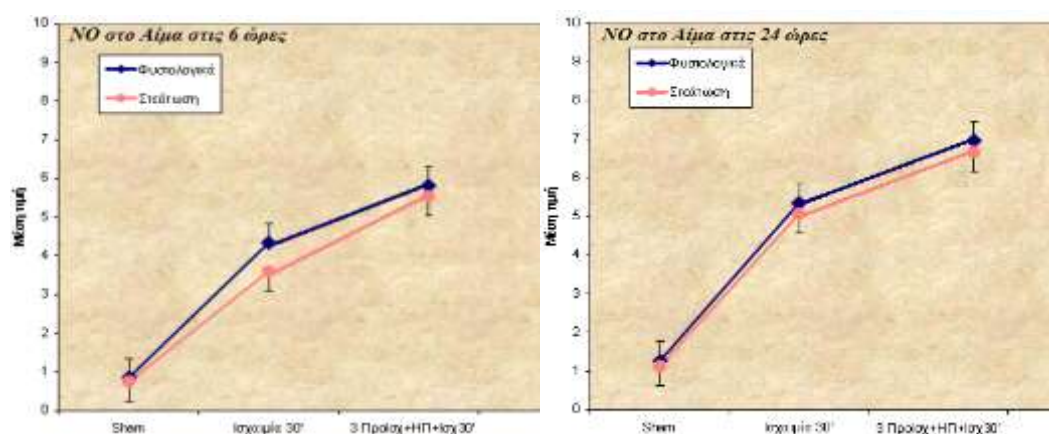
Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p = 0.03$ ) μεταξύ της ομάδας A (φυσιολογικοί επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή) και στην ομάδα Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή), με την ομάδα Γ να παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές του NO στον ηπατικό ιστό στις 6 ώρες σε σχέση με την ομάδα A. Ομοίως, από την σύγκριση των ομάδων B (φυσιολογικοί επίμυες) και Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό IPC, η ομάδα B στις 6 ώρες παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.04$ ) υψηλότερες τιμές στο NO του ηπατικού ιστού σε σχέση με την ομάδα Δ.

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 24 ώρες παρατηρήθηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) μεταξύ των ομάδων ελέγχου E1 και E2, με την ομάδα E1 των φυσιολογικών επίμυων να παρουσιάζει τις υψηλότερες τιμές του NO στον ηπατικό ιστό. Επίσης στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.037$ ) υψηλότερες τιμές του NO στον ηπατικό ιστό εμφάνισε η ομάδα A (φυσιολογικοί επίμυες που

υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή) σε σύγκριση με την ομάδα Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή).

#### 4.3.6 Αποτελέσματα των Μεταβολών του NO στο αίμα

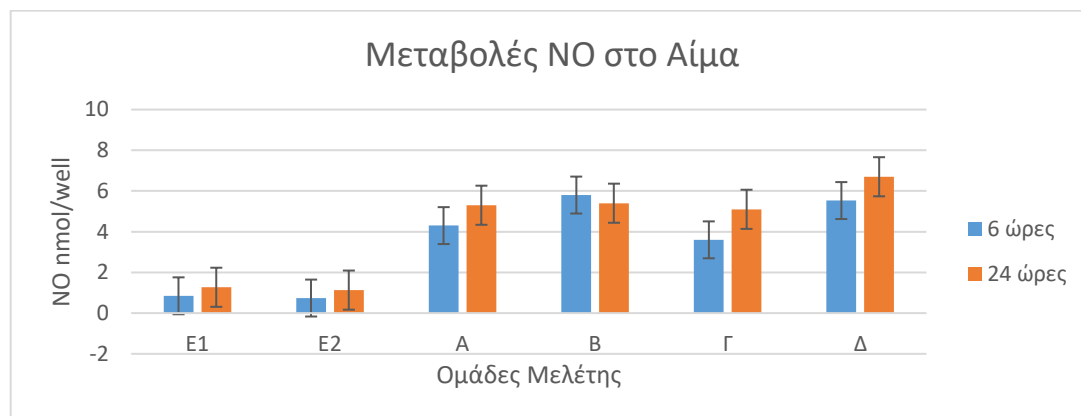
Από την μελέτη των μεταβολών του NO στο αίμα, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση στην διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς, τόσο στις 6 ώρες { $F(3,40)=0.663$ ,  $p=0.580$ } όσο και στις 24 ώρες { $F(3,40)=0.116$ ,  $p=0.950$ }. Άρα, οι φυσιολογικοί επίμυες και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση μετέβαλλαν με τον ίδιο τρόπο τις τιμές του NO στο αίμα στις 6 ώρες και στις 24 ώρες.



**Σχήμα 12.** Διάγραμμα ελέγχου της συμμεταβλητότητας των τιμών του NO στο αίμα, στις 6 και στις 24 ώρες, μεταξύ των επίμυων με ηπατική στεάτωση και των φυσιολογικών.

Από την συσχέτιση της μεταβολής των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες για κάθε ομάδα χωριστά, εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του NO στο αίμα των φυσιολογικών επίμυων της ομάδας ελέγχου E1 ( $p=0.01$ ), της ομάδας A ( $p=0.02$ ) και της ομάδας B ( $p=0.002$ ). Ομοίως, στατιστικά σημαντική αύξηση του NO στο αίμα από τις 6 ώρες στις 24 ώρες, παρατηρήθηκε στην ομάδα Ελέγχου E2 ( $p=0.02$ ), στην ομάδα Γ ( $p=0.001$ ) και στην ομάδα Δ ( $p=0.003$ ), όλες αποτελούμενες από επίμυες που είχαν υποβληθεί σε ηπατική στεάτωση. Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p<0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B). Ειδικότερα, η ομάδα B των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις υψηλότερες τιμές του NO στο αίμα, με ισχυρά

στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ), έναντι των ομάδων Α και Ε1 στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Αντίθετα, η ομάδα ελέγχου των φυσιολογικών επίμυων Ε1 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές του NO στο αίμα, με επίσης ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων Α και Β.



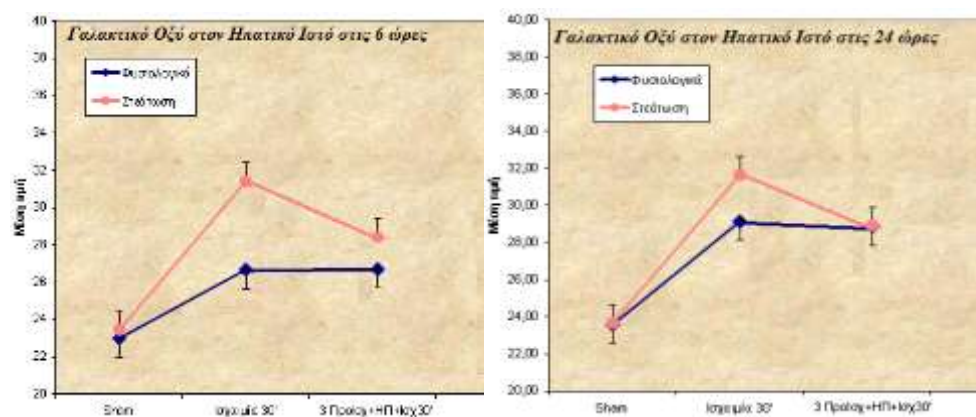
**Σχήμα 13.** Διακύμανση των τιμών του NO στο αίμα. Χαρακτηριστικά χαμηλές τιμές στις 6 ώρες στους επίμυες της ομάδας Γ, με ηπατική στεάτωση που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες, παρατηρήθηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0005$ ) διαφορά ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου Ε2 και την ομάδα Δ. Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου Ε2 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές του NO στον αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι της ομάδας Δ. Επίσης, η ομάδα ελέγχου Ε2 παρουσίασε στις 6 ώρες στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.001$ ) χαμηλότερες τιμές του NO του αίματος σε σύγκριση με την ομάδα Γ, ενώ στις 24 ώρες παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) χαμηλότερες τιμές του NO του αίματος, πάλι συγκρινόμενη με την ομάδα Γ. Επίσης, η ομάδα Δ, των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό IPC, παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.01$ ) υψηλότερες τιμές του NO του αίματος σε σύγκριση με την ομάδα Γ, των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν μόνο σε IRI και ηπατεκτομή, τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες από το πέρας των χειρισμών. Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες, δεν

παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συγκρινόμενων ομάδων ομάδας A.

#### 4.3.7 Αποτελέσματα των Μεταβολών του LA στον ηπατικό ιστό

Από την μελέτη των μεταβολών του Γαλακτικού οξέος (LA) στον ηπατικό ιστό, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση και διαφορετική διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς, στις 6 ώρες { $F(3.40)=9.65$ ,  $p<0.0005$ }, και οριακά στατιστική αλληλεπίδραση στις 24 ώρες { $F(3.40)=2.65$ ,  $p=0.05$ }. Άρα, τόσο οι φυσιολογικοί επίμυες όσο και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση μετέβαλλαν με διαφορετικό τρόπο τις τιμές του Γαλακτικού οξέος (LA) στον ηπατικό ιστό τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες από το πέρας των πειραματικών χειρισμών.



**Σχήμα 4.** Διάγραμμα ελέγχου της μεταβλητότητας του Γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό, στις 6 και στις 24 ώρες, μεταξύ των επίμυων με ηπατική στεάτωση και των φυσιολογικών.

Από την συσχέτιση της μεταβολής των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες για κάθε ομάδα ξεχωριστά, εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του Γαλακτικού οξέος (LA) στον ηπατικό ιστό μόνο για την ομάδα A ( $p=0.001$ ) και την ομάδα B ( $p=0.003$ ) των φυσιολογικών επίμυων.

Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p<0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου E1 με τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων A και B, για το Γαλακτικό οξύ (LA) του ηπατικού ιστού. Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E1 των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις χαμηλότερες τιμές του Γαλακτικού οξέος (LA) στον



ηπατικό ιστό, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ), έναντι των ομάδων A και B στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Αντίθετα, μεταξύ των ομάδων A και B δεν ανιχνεύθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές του Γαλακτικού οξέος (LA), ούτε στις 6 ώρες αλλά ούτε και στις 24 ώρες από τους χειρισμούς.



**Σχήμα 15.** Διακύμανση των τιμών του γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό. Χαρακτηριστικά υψηλότερες τιμές, στις 6 και στις 24 ώρες, στους επίμυες της ομάδας Γ, με ηπατική στεάτωση που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

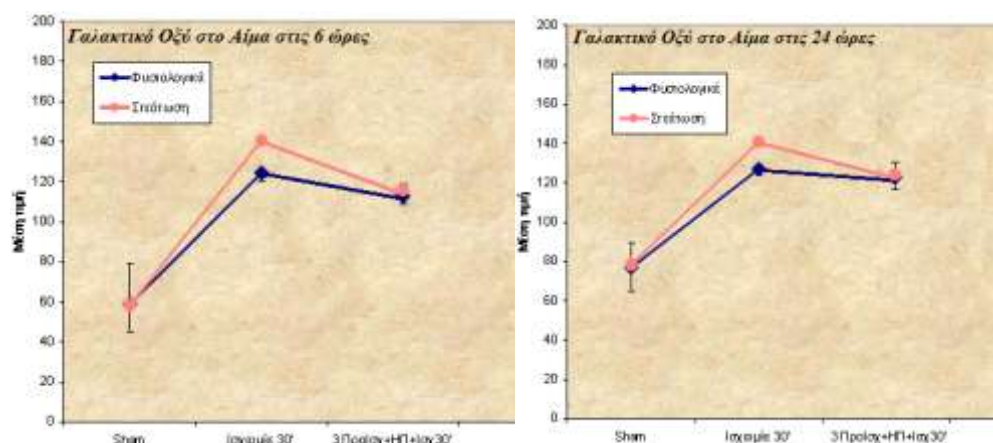
Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ) για την παράμετρο του Γαλακτικού οξέος (LA) στον ηπατικό ιστό. Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις χαμηλότερες τιμές του Γαλακτικού οξέος (LA) στον ηπατικό ιστό, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων Γ και Δ, ενώ η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές του Γαλακτικού οξέος (LA) στον ηπατικό ιστό, έναντι των ομάδων E2 και Δ, στις 6 ώρες. Παρόμοια, στις 24 ώρες από το πέρας των χειρισμών, η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές του Γαλακτικού οξέος (LA) στον ηπατικό ιστό έναντι της ομάδας E2 και στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.001$ ) τις υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με την ομάδα Δ.

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p = 0.01$ ) μεταξύ της ομάδας B (φυσιολογικοί επίμυες που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό IPC) και στην ομάδα Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση επίμυες που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό IPC),

με την ομάδα Β να παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές του Γαλακτικού οξέος (LA) στον ηπατικό ιστό στις 6 ώρες σε σχέση με την ομάδα Δ. Ισχυρή στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) παρουσιάζουν στις 6 ώρες από τους χειρισμούς οι ομάδες Α και Γ, με την ομάδα Γ να παρουσιάζει σημαντικά υψηλότερες τιμές του Γαλακτικού οξέος (LA) στον ηπατικό ιστό σε σχέση με την Α. Τέλος, στις 24 ώρες από τους χειρισμούς, η ομάδα Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.003$ ) υψηλότερες τιμές του Γαλακτικού οξέος (Lactate) στον ηπατικό ιστό σε σύγκριση με την αντίστοιχη ομάδα Α (φυσιολογικοί επίμυες).

#### 4.3.8 Αποτελέσματα των Μεταβολών του LA στο αίμα

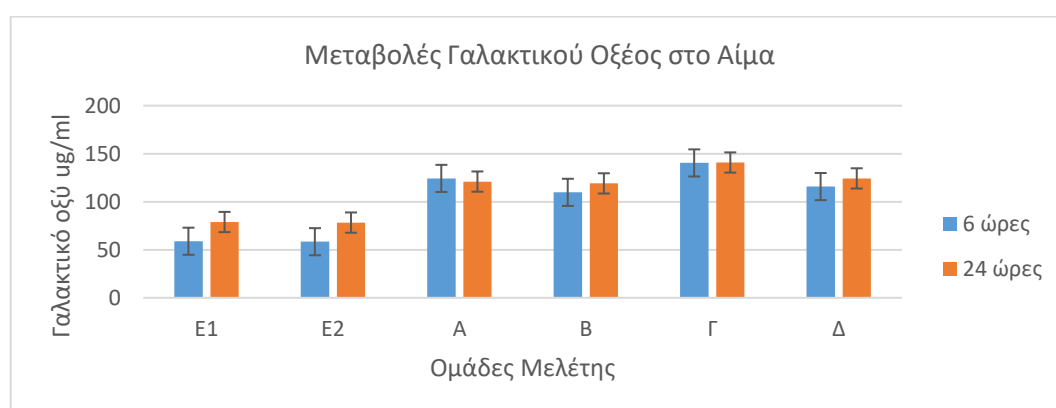
Από την μελέτη των μεταβολών του γαλακτικού οξέος στο αίμα, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και αυτών με ηπατική στεάτωση, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση στην διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς, τόσο στις 6 ώρες  $\{F(3,40)=1.51, p=0.226\}$  όσο και στις 24 ώρες  $\{F(3,40)=1.00, p=0.4\}$ . Άρα, οι φυσιολογικοί επίμυες και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση μετέβαλλαν με τον ίδιο τρόπο τις τιμές του γαλακτικού οξέος στο αίμα στις 6 ώρες και στις 24 ώρες.



**Σχήμα 5.** Διάγραμμα ελέγχου της μεταβλητότητας του γαλακτικού οξέος στο αίμα, στις 6 και 24 ώρες, μεταξύ των επίμυων με ηπατική στεάτωση και των φυσιολογικών.

Από την συσχέτιση της μεταβολής των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες για κάθε ομάδα χωριστά, εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του γαλακτικού οξέος στο αίμα των φυσιολογικών επίμυων της ομάδας ελέγχου E1 ( $p = 0.004$ ) και της ομάδας Β ( $p = 0.003$ ) και των επίμυων με ηπατική στεάτωση της ομάδας ελέγχου E2 ( $p = 0.001$ ) και της ομάδας Δ ( $p = 0.008$ ).

Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.0005$ ) διαφορές στην ομάδα ελέγχου E1 σε σχέση με τις άλλες δυο ομάδες των φυσιολογικών επίμυων A και B. Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E1 των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις χαμηλότερες τιμές του γαλακτικού οξέος στο αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ), έναντι των ομάδων A και B, στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Αντίθετα, οι ομάδες A και B των φυσιολογικών δεν παρουσίασαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες.



**Σχήμα 6.** Διακύμανση των τιμών του γαλακτικού οξέος στο αίμα. Χαρακτηριστικά υψηλότερες τιμές, στις 6 και στις 24 ώρες, στους επίμυες της ομάδας Γ, με ηπατική στεάτωση που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

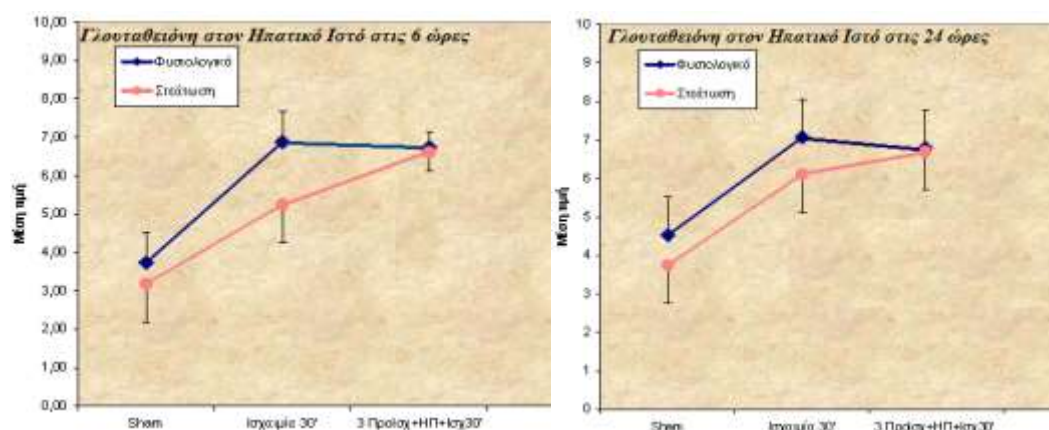
Στις 6 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε στις 6 ώρες τις χαμηλότερες τιμές του γαλακτικού οξέος στο αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων Γ και Δ, ενώ η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές του γαλακτικού οξέος στο αίμα, έναντι των ομάδων E2 και Δ στις 6 ώρες. Στις 24 ώρες επίσης παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου E2 σε σύγκριση με τις λοιπές ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση Γ και Δ. Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές του γαλακτικού οξέος στον αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων Γ και Δ, ενώ η

ομάδα Γ παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p=0.032$ ) τις υψηλότερες τιμές του γαλακτικού οξέος συγκρινόμενη με την ομάδα Δ, επίσης στις 24 ώρες.

Η ομάδα Γ, των επίμυων με ηπατική στεάτωση, παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές του γαλακτικού οξέος στο αίμα σε σχέση με την ομάδα Α των φυσιολογικών επίμυων που επίσης υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες από τους χειρισμούς. Αξιοσημείωτο είναι ότι από την σύγκριση των τιμών του γαλακτικού οξέος του αίματος μεταξύ των ομάδων Β (φυσιολογικοί επίμυες) και Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) δεν προέκυψε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά για τις 6 ώρες ή τις 24 ώρες.

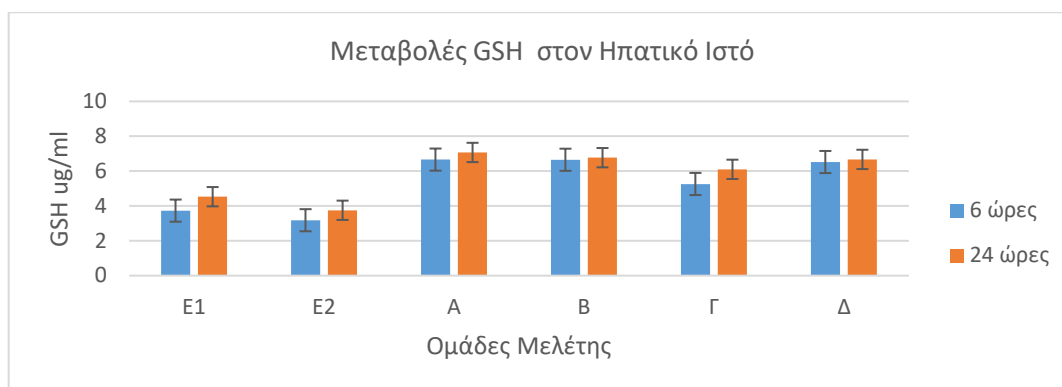
#### 4.3.9 Αποτελέσματα των Μεταβολών της GSH στον ηπατικό ιστό

Από την μελέτη των μεταβολών της Γλουταθειόνης (GSH) στον ηπατικό ιστό, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση στη διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς, τόσο στις 6 ώρες  $\{F(3.40)=1.98, p =0.132\}$ , όσο και στις 24 ώρες  $\{F(3.40)=0.616, p =0.609\}$ . Άρα, τόσο οι φυσιολογικοί επίμυες όσο και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση μετέβαλλαν με τον ίδιο τρόπο τις τιμές της GSH στον ηπατικό ιστό τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες από το πέρασμα των πειραματικών χειρισμών.



**Σχήμα 7.** Διάγραμμα ελέγχου της μεταβλητότητας των τιμών της γλουταθειόνης στον ηπατικό ιστό, στις 6 και 24 ώρες, μεταξύ των επίμυων με ηπατική στεάτωση και των φυσιολογικών.

Από την συσχέτιση της μεταβολής των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες για κάθε ομάδα ξεχωριστά, δεν εντοπίστηκε καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή της GSH στον ηπατικό ιστό για καμία από τις μελετώμενες ομάδες επίμυων.



**Σχήμα 19.** Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στον ηπατικό ιστό. Χαρακτηριστικά χαμηλότερες τιμές, στις 6 και στις 24 ώρες, στους επίμυες της ομάδας Γ, με ηπατική στεάτωση που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου E1 με τις ομάδες A και B, των φυσιολογικών επίμυων για την GSH του ηπατικού ιστού. Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E1 των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις χαμηλότερες τιμές της GSH στον ηπατικό ιστό, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ), έναντι των ομάδων A και B στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Αντίθετα, οι ομάδες A και B ελέγχου δεν παρουσίασαν μεταξύ τους καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες.

Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0005$ ) συσχέτιση ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου E2 με τις ομάδες Γ και Δ, των επίμυων με ηπατική στεάτωση. Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις χαμηλότερες τιμές της GSH στον ηπατικό ιστό, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων Γ και Δ, ενώ η ομάδα Γ παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.05$ ) τις υψηλότερες τιμές της GSH στον ηπατικό ιστό, έναντι της ομάδας Δ, μόνο στις 6 ώρες από τους χειρισμούς.

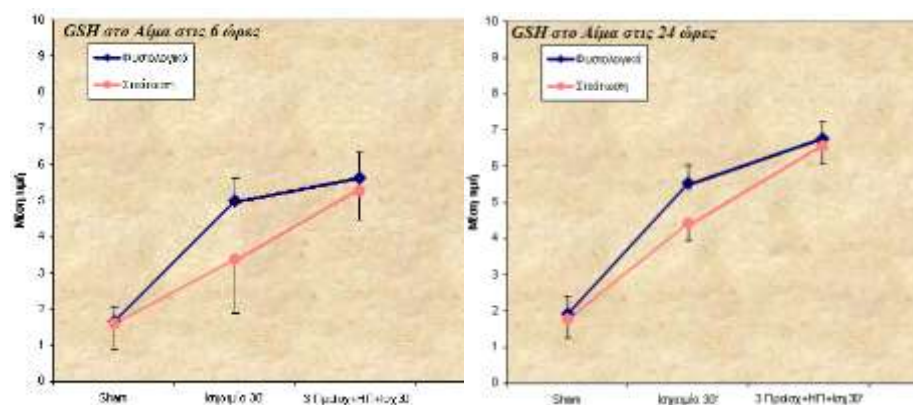
Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p = 0.004$ ) μόνο μεταξύ της ομάδας A (φυσιολογικοί επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή) και της ομάδας Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση επίμυες

που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή), με την ομάδα A να παρουσιάζει τις υψηλότερες τιμές της GSH στον ηπατικό ιστό σε σχέση με την ομάδα Γ.

#### 4.3.10 Αποτελέσματα των Μεταβολών της GSH στο αίμα

Από την μελέτη των μεταβολών της Γλουταθειόνης (GSH) στο αίμα, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση στην διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς, τόσο στις 6 ώρες {  $F(3,40)=2.26$ ,  $p=0.096$ } όσο και στις 24 ώρες {  $F(3,40)=2.28$ ,  $p=0.094$ }. Άρα, οι φυσιολογικοί επίμυες και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση μετέβαλλαν με διαφορετικό τρόπο τις τιμές της GSH στο αίμα τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες.

Από την συσχέτιση της μεταβολής των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες για κάθε ομάδα χωριστά, εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική ( $p=0.01$ ) αύξηση της GSH στο αίμα των φυσιολογικών επίμυων της ομάδας B.

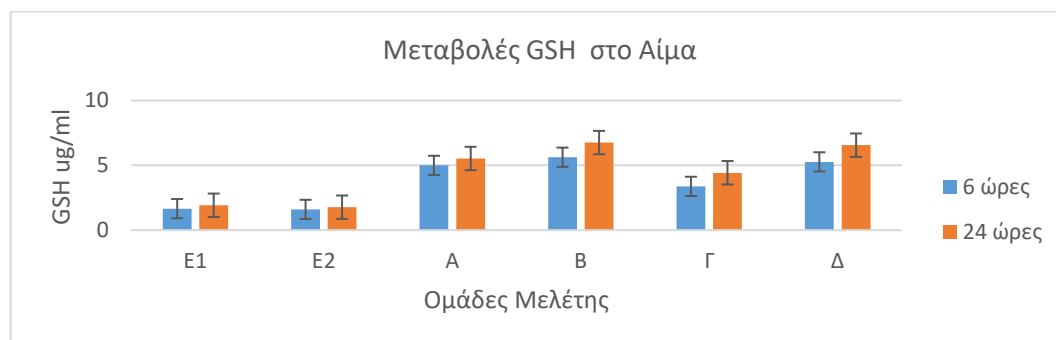


**Σχήμα 8.** Διάγραμμα ελέγχου της συμεταβλητότητας των τιμών της γλουταθειόνης στο αίμα, στις 6 και 24 ώρες, μεταξύ των επίμυων με ηπατική στεάτωση και των φυσιολογικών.

Επίσης, στατιστικά σημαντική ( $p=0.005$ ) αύξηση της GSH στο αίμα από τις 6 ώρες στις 24 ώρες παρατηρήθηκε στους επίμυες με ηπατική στεάτωση της ομάδας Δ, που υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p<0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου E1 σε σχέση με τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων A και B. Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E1 των φυσιολογικών επίμυων παρουσίασε στις 6 ώρες και στις 24 ώρες τις χαμηλότερες τιμές της GSH στο αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ), έναντι των ομάδων A και B στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Από

τη σύγκριση όμως των ομάδων A και B των φυσιολογικών επίμυων, στατιστικά σημαντική ( $p=0.004$ ) διαφορά για την GSH του αίματος, παρουσιάστηκε μόνο στις 24 ώρες, με την μάδα B να παρουσιάζει τις υψηλότερες τιμές της GSH στο αίμα σε σύγκριση με την ομάδα A.



**Σχήμα 9.** Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στο αίμα. Χαρακτηριστικά χαμηλές τιμές, στις 6 και στις 24 ώρες, στους επίμυες της ομάδας Γ, με ηπατική στεάτωση που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές της GSH στον αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ) έναντι της ομάδας Γ. Επίσης η ομάδα ελέγχου E2 συγκρινόμενη με την ομάδα A, παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p=0.001$ ) χαμηλότερες τιμές της GSH στις 6 ώρες και ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) χαμηλότερες τιμές στις 24 ώρες. Τέλος, Από τη σύγκριση των τιμών της GSH του αίματος μεταξύ των ομάδων A και B προέκυψαν, στατιστικά σημαντικά ( $p=0.001$ ) υψηλότερες τιμές της GSH στο αίμα της ομάδας B και ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) υψηλότερες τιμές της GSH στο αίμα πάλι της ομάδας B στις 24 ώρες.

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p=0.005$ ) μόνο μεταξύ της ομάδας A (φυσιολογικοί επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή) και της ομάδας Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση επίμυες που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή), με την ομάδα A να παρουσιάζει τις

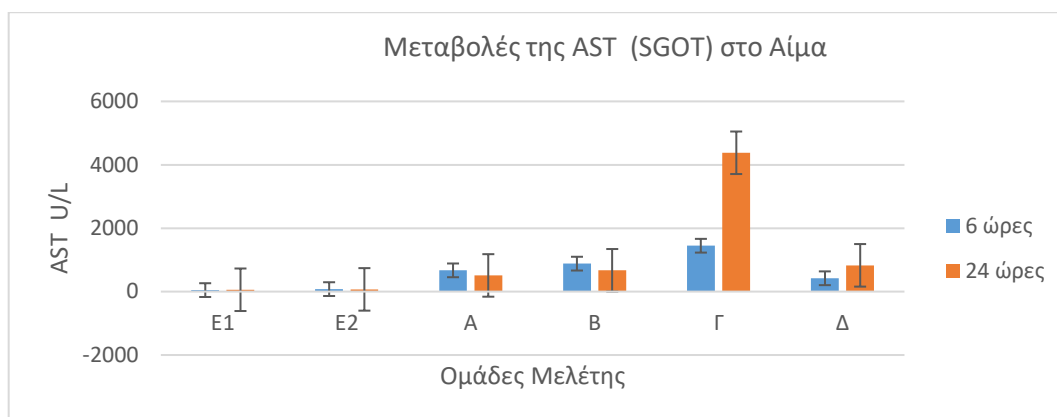
υψηλότερες τιμές της GSH στο αίμα σε σχέση με την ομάδα Γ. Τέλος, στις 24 ώρες στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p=0.046$ ) παρουσιάστηκε μόνο μεταξύ των ομάδων Α και Γ, με τις υψηλότερες τιμές της GSH στο αίμα, να παρατηρούνται στην ομάδα Α των φυσιολογικών επίμυων.

#### **4.3.11 Αποτελέσματα μεταβολών των Βασικών Βιοχημικών Παραμέτρων στο αίμα (AST, ALT, $\gamma$ GT, ALP, Τριγλυκεριδίων, Χοληστερόλης και Ολικών Λιπιδίων)**

Από τη μελέτη των τιμών της **Ασπαρτικής Αμινοτρανσφεράσης (AST - SGOT)** στο αίμα προέκυψε, κατ' αρχάς στατιστικά σημαντική μείωση της τιμής της, από τις 6 στις 24 ώρες, για την ομάδα Α ( $p<0.0005$ ) και την ομάδα Β ( $p=0.001$ ) των φυσιολογικών επίμυων και στατιστικά σημαντική αύξηση της για τις ομάδες Γ ( $p<0.0005$ ) και Δ ( $p=0.005$ ) των επίμυων με ηπατική στεάτωση. Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, Α και Β). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E1 παρουσίασε στις 6 ώρες τις χαμηλότερες τιμές της AST στο αίμα, με στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p=0.002$ ) από την ομάδα Α και ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) διαφορά από την ομάδα Β. Τις υψηλότερες τιμές της AST στο αίμα παρουσίασε η ομάδα Α, η οποία συγκρινόμενη με την ομάδα Β, παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p=0.007$ ) υψηλότερες τιμές της AST στις 6 ώρες. Παρόμοια διακυμάνθηκαν οι τιμές της AST για τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων και στις 24 ώρες. Η ομάδα ελέγχου E1 στις 24 ώρες, παρουσίασε πάλι τις χαμηλότερες τιμές της AST στο αίμα, με στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα Α ( $p=0.001$ ) και την ομάδα Β ( $p=0.007$ ). Τις υψηλότερες τιμές της AST στο αίμα παρουσίασε πάλι η ομάδα Α, η οποία συγκρινόμενη με την ομάδα Β, παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p=0.008$ ) υψηλότερες τιμές της ALP στις 24 ώρες.

Από τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ) αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες. Ειδικότερα, στις 6 ώρες η ομάδα Γ παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές για την AST, με στατιστικά σημαντική διαφορά με την ομάδα ελέγχου E2 ( $p=0.002$ ) και την ομάδα Δ ( $p=0.007$ ).





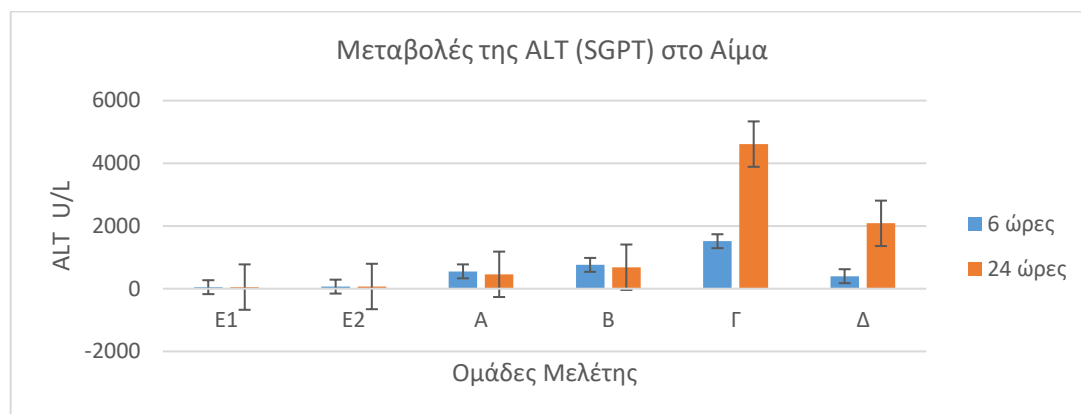
**Σχήμα 10.** Διακυμάνσεις της AST στο αίμα. Χαρακτηριστικά υψηλές τιμές, στις 6 και στις 24 ώρες, στους επίμυες της ομάδας Γ, με ηπατική στεάτωση που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Επίσης στις 6 ώρες η ομάδα ελέγχου παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές της AST, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,0005$ ) από την ομάδα Δ. Παρομοίως, στις 24 ώρες πάλι η ομάδα Γ παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές της AST, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,0005$ ) από τις ομάδες E2 και Δ. Αντίστοιχα και στις 24 ώρες πάλι η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές της AST, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,0005$ ) από την ομάδα Δ.

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,0005$ ) μεταξύ των ομάδων ελέγχου E1 και E2. Συγκρίνοντας τις αντίστοιχες ομάδες στις 24 ώρες, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p = 0,008$ ) μεταξύ των ομάδων A και Γ, με τις υψηλότερες τιμές της AST στο αίμα, να παρατηρούνται στην ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση. Επίσης, στις 24 ώρες η ομάδα Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) παρουσίασε οριακά στατιστικά σημαντικά ( $p = 0,04$ ) χαμηλότερες τιμές για την AST σε σχέση με την ομάδα B (φυσιολογικοί επίμυες).

Από τη μελέτη των τιμών της **Αλανινικής Αμινοτρανσφεράσης (ALT - SGPT)** στο αίμα προέκυψε, κατ' αρχάς στατιστικά σημαντική μείωση της τιμής της, από τις 6 στις 24 ώρες, για τις ομάδες A ( $p = 0,03$ ) και B ( $p = 0,02$ ) των φυσιολογικών επίμυων, και στατιστικά σημαντική αύξηση για τις ομάδες Γ ( $p = 0,002$ ) και Δ ( $p = 0,005$ ) των επίμυων με ηπατική στεάτωση. Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ομάδες

των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E1 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές της ALT στο αίμα, με στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα A ( $p=0.002$ ) κι από την ομάδα B ( $p=0.001$ ).



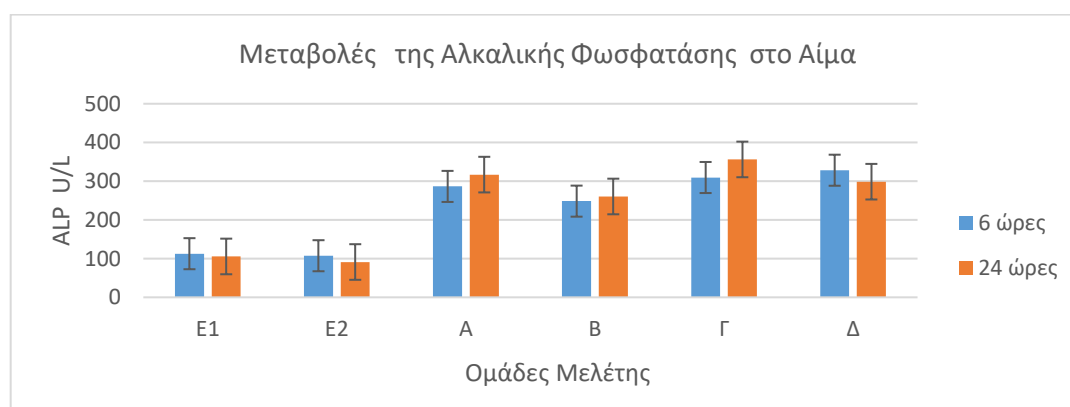
**Σχήμα 11.** Διακυμάνσεις της ALT στο αίμα. Χαρακτηριστικά υψηλές τιμές, στις 6 και στις 24 ώρες, στους επίμυες της ομάδας Γ, με ηπατική στεάτωση που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC, καθώς και σημαντικά μειωμένες τιμές στις 24 ώρες στην ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC, σε σύγκριση με την Γ.

Τις υψηλότερες τιμές της ALT στο αίμα παρουσίασε η ομάδα A, η οποία συγκρινόμενη με την ομάδα B, παρουσίασε στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές της ALT τόσο στις 6 ώρες ( $p=0.002$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p=0.05$ ). Παρόμοια, από τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ) αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες. Ειδικότερα, στις 6 ώρες η ομάδα Γ παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές για την ALT, με στατιστικά σημαντική διαφορά με την ομάδα ελέγχου E2 ( $p=0.001$ ) και την ομάδα Δ ( $p=0.002$ ). Επίσης στις 6 ώρες η ομάδα ελέγχου παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές της ALT, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0,0005$ ) από την ομάδα Δ. Παρομοίως, στις 24 ώρες πάλι η ομάδα Γ παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές της ALT, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ) από τις ομάδες E2 και Δ. Αντίστοιχα και στις 24 ώρες πάλι η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές της ALT, με στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p=0.002$ ) από την ομάδα Δ.

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ) μεταξύ των ομάδων ελέγχου E1 και E2. Η ομάδα Γ (επίμυες με

ηπατική στεάτωση) παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) υψηλότερες τιμές της ALT από την ομάδα A (φυσιολογικοί επίμυες), τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες. Επίσης, η ομάδα Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.001$ ) χαμηλότερες τιμές της ALT στις 6 ώρες σε σύγκριση με την ομάδα B (φυσιολογικοί επίμυες), ενώ στις 24 ώρες η ομάδα Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) υψηλότερες τιμές για την ALT σε σχέση πάλι με την ομάδα B.

Από τη μελέτη των τιμών της **Αλκαλικής Φωσφατάσης (ALP)** στο αίμα προέκυψε, κατ'αρχάς στατιστικά σημαντική αύξηση της τιμής της, από τις 6 στις 24 ώρες, μόνο για την ομάδα A των φυσιολογικών επίμυων που υποβλήθηκαν σε χειρισμό για την πρόκληση IRI και ηπατεκτομή. Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.0005$ ) διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E1 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές της ALP στον αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων A και B. Επίσης, η ομάδα A συγκρινόμενη με την ομάδα B, παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές της ALP, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες.



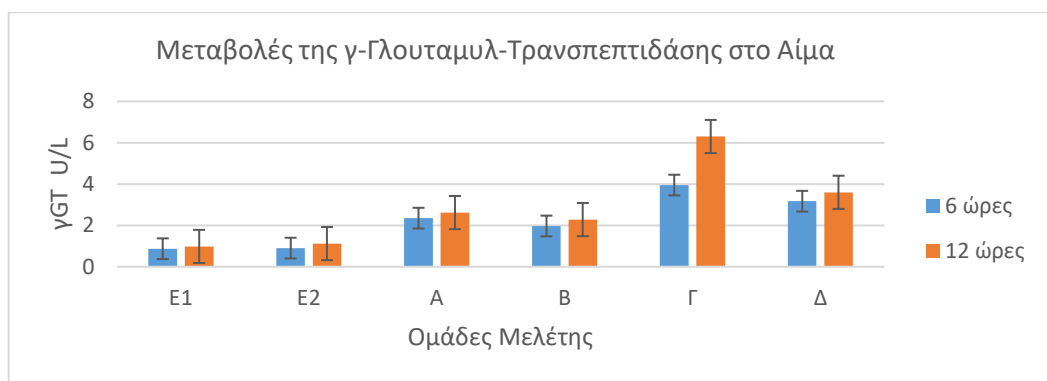
**Σχήμα 12.** Διακυμάνσεις της Αλκαλικής Φωσφατάσης στο αίμα. Ιδιαίτερα αυξημένες τιμές στις ομάδες A και Γ, που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Επίσης, η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές της ALP στο αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) έναντι των ομάδων Γ και Δ των επίμυων με ηπατική

στεάτωση. Αντίθετα, συγκρινόμενες μεταξύ τους οι ομάδες Γ και Δ δεν παρουσίασαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές της ALP, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες.

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p=0.002$ ) μεταξύ της ομάδας Β (φυσιολογικοί επίμυες) και της ομάδας Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση), με την ομάδα Β να παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές της ALP. Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 24 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p=0.02$ ) μεταξύ της ομάδας ελέγχου Ε1 (φυσιολογικοί επίμυες) και της ομάδας ελέγχου Ε2 (επίμυες με ηπατική στεάτωση). Επίσης, στις 24 ώρες η ομάδα Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε IRI και ηπατεκτομή) παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p=0.03$ ) υψηλότερες τιμές της ALP σε σύγκριση με την αντίστοιχη ομάδα Α των φυσιολογικών επίμυων.

Από τη μελέτη των τιμών της ***γ-Γλουταμυλ-Τρανσπεπτιδάσης (γGT)*** στο αίμα προέκυψε, στατιστικά σημαντική αύξηση της τιμής της, από τις 6 στις 24 ώρες, για την ομάδα Β ( $p=0.02$ ) των φυσιολογικών επίμυων, αλλά και για την ομάδα Δ ( $p=0.02$ ) των επίμυων με ηπατική στεάτωση. Επίσης ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) αύξηση της τιμής της γGT από τις 6 στις 24 ώρες παρουσίασε η ομάδα Γ. Ομοίως, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (Ε1, Α και Β). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου Ε1 παρουσίασε, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές της γGT στο αίμα, με ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) διαφορά από τις ομάδες Α και Β. Τις υψηλότερες τιμές της γGT στο αίμα παρουσίασε η ομάδα Α η οποία παρουσίασε στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές της γGT τόσο στις 6 ώρες ( $p=0.04$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p=0.04$ ) συγκρινόμενη με την ομάδα Β.



**Σχήμα 25.** Διακύμανση τιμών της γ-Γλουταμυλ-Τρανσπεπτιδάσης στο αίμα. Χαρακτηριστικά υψηλές τιμές στην ομάδα Γ, των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Από τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ) αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες. Ειδικότερα, στις 6 ώρες η ομάδα Γ παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές για την γGT, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά με την ομάδα ελέγχου E2 ( $p < 0.0005$ ) και στατιστικά σημαντική διαφορά με την ομάδα Δ ( $p = 0.009$ ). Επίσης στις 6 ώρες η ομάδα ελέγχου παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές της γGT, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,0005$ ) από την ομάδα Δ. Παρομοίως, στις 24 ώρες πάλι η ομάδα Γ παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές της γGT, με στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα ελέγχου E2 ( $p = 0.001$ ) και την ομάδα Δ ( $p = 0.05$ ). Αντίστοιχα και στις 24 ώρες πάλι η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές της γGT, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) από την ομάδα Δ.

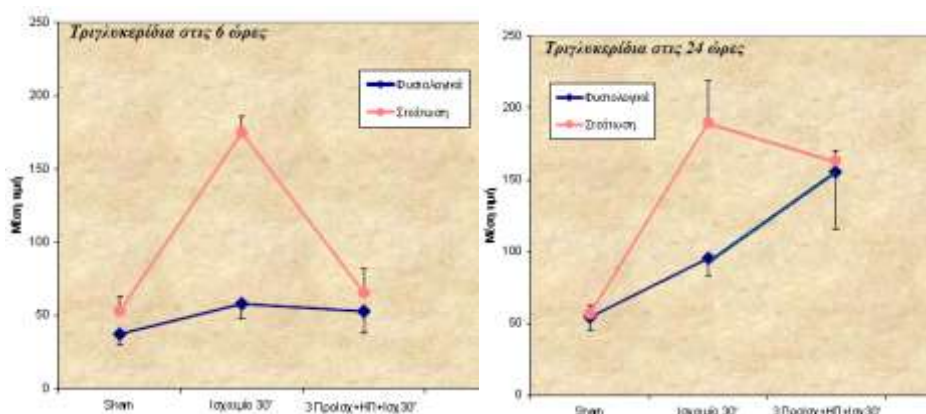
Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 και στις 24 ώρες

παρατηρήθηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) μεταξύ των ομάδων B και Δ, με την ομάδα Δ να παρουσιάζει σταθερά τις υψηλότερες τιμές για την γGT. Επίσης, συγκρίνοντας τις ομάδες A και Γ, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά, τόσο στις 6 ώρες ( $p = 0.05$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p = 0.04$ ), με την ομάδα Γ να παρουσιάζει τις υψηλότερες τιμές για την γGT σε όλες τις μετρήσεις.

Από τη μελέτη των τιμών των **Τριγλυκεριδίων (TG)** στο αίμα προέκυψε, στατιστικά σημαντική αύξηση της τιμής της, από τις 6 στις 24 ώρες, για την

ομάδα ελέγχου E1 ( $p=0.003$ ), την ομάδα A ( $p=0.002$ ) και την ομάδα B ( $p<0.0005$ ) των φυσιολογικών επίμυων, αλλά και για την ομάδα Δ ( $p<0.0005$ ) των επίμυων με ηπατική στεάτωση.

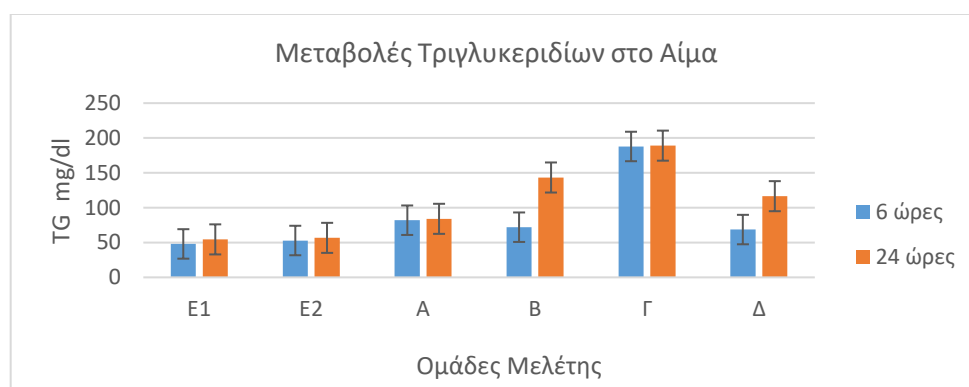
Αξίζει να σημειωθεί, ότι από την μελέτη των μεταβολών των τριγλυκεριδίων (TG) στο αίμα, μεταξύ των φυσιολογικών επίμυων και των επίμυων με ηπατική στεάτωση, παρατηρήθηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση στην διακύμανση των τιμών σε σχέση με τους χειρισμούς τόσο στις 6 ώρες  $\{F(3.40)=52.20, p<0.0005\}$ , όσο και στις 24 ώρες  $\{F(3.40)=13.27, p<0.0005\}$  αποδεικνύοντας ότι οι τιμές των Τριγλυκεριδίων (TG) μεταβάλλονταν με εντελώς διαφορετικό τρόπο στα φυσιολογικά ζωικά πρότυπα σε σχέση με αυτά με ηπατική στεάτωση.



**Σχήμα 13.** Διάγραμμα ελέγχου της συμμεταβλητότητας των τριγλυκεριδίων στο αίμα.

Από την περαιτέρω μελέτη των τιμών των TG στο αίμα, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, στις τιμές των TG στο αίμα, ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E1 παρουσίασε στις 6 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές των TG στο αίμα, με στατιστικά σημαντική διαφορά όμως, μόνο από την ομάδα B ( $p<0.03$ ). Και στις 24 ώρες, η ομάδα ελέγχου E1 παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές των TG στο αίμα, με στατιστικά σημαντική διαφορά από τις ομάδες A ( $p=0.002$ ) και B ( $p=0.007$ ). Από τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ) αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες. Ειδικότερα, στις 6 ώρες η ομάδα Γ παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές για τα TG, με ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) διαφορά με την ομάδα ελέγχου E2 και την ομάδα Δ.

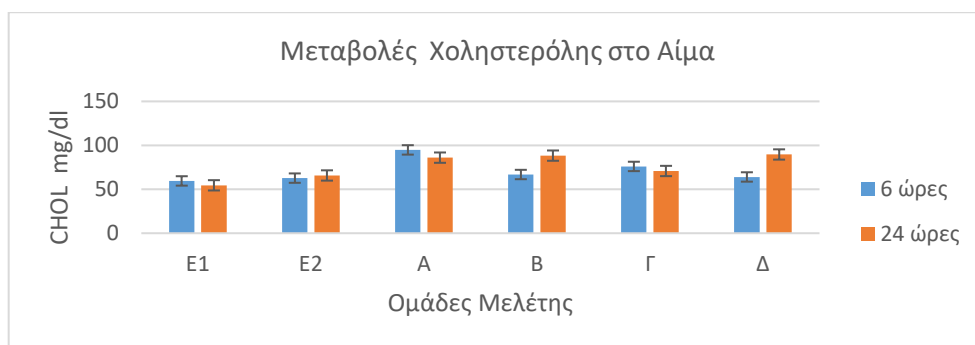
Επίσης στις 6 ώρες η ομάδα ελέγχου παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές των TG, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,0005$ ) από την ομάδα Δ. Παρομοίως, στις 24 ώρες πάλι η ομάδα Γ παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές των TG, με στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα ελέγχου E2 ( $p = 0.001$ ) και την ομάδα Δ ( $p = 0.003$ ). Αντίστοιχα και στις 24 ώρες πάλι η ομάδα ελέγχου E2 παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές των TG, με ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) από την ομάδα Δ.



**Σχήμα 14.** Διακύμανση των τιμών των Τριγλυκεριδίων στο αίμα. Χαρακτηριστικά υψηλές τιμές, στις 6 και στις 24 ώρες στο αίμα των επίμυων με ηπατική στεάτωση της ομάδας Γ, που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p = 0.005$ ) μεταξύ των ομάδων ελέγχου E1 και E2 και ισχυρή στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0005$ ) διαφορά μεταξύ των ομάδων A και Γ, με τις υψηλότερες τιμές των TG να τις παρουσιάζει η ομάδα Γ. Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς στις 24 ώρες παρατηρήθηκε ισχυρή στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) μεταξύ των ομάδων A και Γ, με την ομάδα Γ να παρουσιάζει σταθερά τις υψηλότερες τιμές για τα TG.

Από τη μελέτη των τιμών της **Χοληστερόλης (CHOL)** στο αίμα προέκυψε, στατιστικά σημαντική αύξηση της τιμής της, από τις 6 στις 24 ώρες, για την ομάδα A ( $p = 0.04$ ) και την ομάδα B ( $p < 0.0005$ ) των φυσιολογικών επίμυων, αλλά και για την ομάδα Δ ( $p = 0.0001$ ) των επίμυων με ηπατική στεάτωση.



**Σχήμα 28.** Διακύμανση των τιμών της χοληστερόλης στο αίμα.

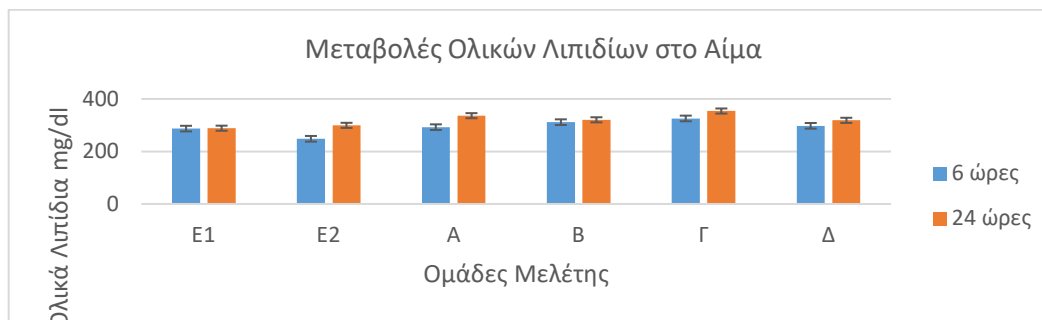
Από την περαιτέρω μελέτη των τιμών της CHOL στο αίμα, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, στις τιμές της στο αίμα, ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B). Ειδικότερα, η ομάδα ελέγχου E1 παρουσίασε στις 6 ώρες, τις χαμηλότερες τιμές της CHOL στο αίμα, με στατιστικά σημαντική διαφορά όμως, μόνο από την ομάδα A ( $p=0.0001$ ). Και στις 24 ώρες, η ομάδα ελέγχου E1 παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές της CHOL στο αίμα, με στατιστικά σημαντική διαφορά από τις ομάδες A ( $p=0.0001$ ) και B ( $p=0.0001$ ). Τις υψηλότερες τιμές της CHOL το αίμα εμφάνισε η ομάδα A στις 6 ώρες με στατιστικά σημαντική ( $p=0.001$ ) διαφορά σε σχέση με την ομάδα B.

Από τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ) αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μόνο στις 24 ώρες. Ειδικότερα, στις 24 ώρες η ομάδα Δ παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές της CHOL στο αίμα, με στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα ελέγχου E2 ( $p=0.001$ ) και την ομάδα Γ ( $p=0.02$ ).

Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, μόνο στις 6 ώρες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική ( $p=0.03$ ) διαφορά και μόνο μεταξύ των ομάδων A και Γ, με τις υψηλότερες τιμές της CHOL να τις παρουσιάζει η ομάδα A.

Από τη μελέτη των τιμών των **Ολικών Λιπιδίων (TLIP)** στο αίμα προκύπτει, στατιστικά σημαντική ( $p=0.01$ ) αύξηση της τιμής τους, από τις 6 στις 24 ώρες, μόνο για την ομάδα A των φυσιολογικών επίμυων.





**Σχήμα 15.** Διακύμανση των τιμών των Ολικών Λιπιδίων στο αίμα.

Από την περαιτέρω μελέτη των τιμών των TLIP στο αίμα, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στις τιμές τους στο αίμα ανάμεσα στις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων (E1, A και B). Ομοίως, και από τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων των επίμυων με ηπατική στεάτωση (E2, Γ και Δ) δεν αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις τιμές των TLIP, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες. Συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς, στις 6 ώρες δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά για τις τιμές των TLIP. Ομοίως, συγκρίνοντας τις ομάδες των φυσιολογικών επίμυων με τις αντίστοιχες ομάδες των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που είχαν υποβληθεί στους ίδιους χειρισμούς στις 24 ώρες δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των ομάδων τιμές για των TLIP.

#### **4.4 Ταξινόμηση των αποτελεσμάτων βάσει των πειραματικών χειρισμών**

##### **4.4.1 Η επίδρασή της Ηπατικής Στεάτωσης στην ηπατική λειτουργία σε σχέση με το φυσιολογικό ήπαρ μετά από χειρισμό ελέγχου**

Πραγματοποιήθηκε χειρισμός ελέγχου (Sham operation) στις δυο ομάδες ελέγχου E1 (φυσιολογικοί επίμυες) και E2 (επίμυες με ηπατική στεάτωση). Οι μετρήσεις έγιναν σε 6 και 24 ώρες μετά τον χειρισμό ελέγχου και για τις δυο ομάδες. Όπως προαναφέρθηκε, επιβεβαιώθηκε η ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) στο ποσοστό λιπώδους ηπατικής διηθήσεως, με την μακροκενοτοπιώδη μορφή της λιπώδους εκφύλισης των ηπατοκυττάρων να

κυριαρχεί στην ομάδα E2 της ηπατικής στεάτωσης, έναντι της μικροκενοτοπιώδους που αποτελούσε την βασική μορφή εκφύλισης στην πολύ μικρή λιπώδη διήθηση που παρατηρήθηκε στην ομάδα E1 των φυσιολογικών επίμυων.

Οι τιμές των τρανσαμινασών ALT και AST, της ALP και της γGT αποτελούν αξιόπιστους δείκτες επιβάρυνσης της ηπατοκυτταρικής λειτουργίας. Μετά την πραγματοποίηση των χειρισμών ελέγχου, από τη σύγκριση των ομάδων E1 και E2 για τις βασικές παραμέτρους της ηπατικής λειτουργίας, παρατηρήθηκε ισχυρή στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) στις τιμές των ALT και AST μόνο στις 6 πρώτες ώρες, όπου η ομάδα E2 παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές και για τις δυο τρανσαμινάσες (ALT και AST). Επίσης, στατιστικά σημαντική ( $p=0.02$ ) επιβάρυνση παρουσίασε η παράμετρος της ALP, για την ομάδα E2 σε σύγκριση με την E1, στις 24 ώρες. Από πλευράς των τριγλυκεριδίων (TG) αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση τους από τις 6 στις 24 ώρες για την ομάδα E2 και στατιστικά σημαντικά ( $p=0.005$ ) υψηλότερες τιμές τους στην ομάδα E2 σε σχέση με την E1 στις 6 ώρες από τους χειρισμούς ελέγχου.

Για την IL6 στο αίμα παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση ( $p=0.004$ ) στους επίμυες της ομάδας E1 μεταξύ 6 ωρών και 24 ωρών, καθώς και στις 24 ώρες εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p=0.01$ ) μεταξύ της ομάδας E1 και της ομάδας E2, με την E1 των φυσιολογικών επίμυων να παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερη αύξηση της IL6 στο αίμα σε σχέση με την E2. Για το NO του ηπατικού ιστού, προέκυψε ισχυρή στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0005$ ) αύξηση του μεταξύ των 6 ωρών και των 24 ωρών στους επίμυες της ομάδας E1. Από τη μέτρηση του NO στο αίμα, προέκυψε στατιστικά σημαντική αύξηση, τόσο για την ομάδα E1 ( $p=0.013$ ), όσο και για την ομάδα E2 (0.02), από τις 6 στις 24 ώρες. Ωστόσο, μόνο στις 24 ώρες, το NO παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) μεγαλύτερη αύξηση στον ηπατικό ιστό των φυσιολογικών επίμυων της ομάδας ελέγχου E1 σε σύγκριση με τους επίμυες με ηπατική στεάτωση στην ομάδα E2. Από την μέτρηση του Γαλακτικού οξέος προέκυψε στατιστικά σημαντική αύξηση, τόσο για την ομάδα E1 ( $p=0.05$ ), όσο και για την ομάδα E2 ( $p=0.035$ ), από τις 6 στις 24 ώρες.

Συνοπτικά, οι επίμυες με ηπατική στεάτωση παρουσίασαν μεγαλύτερη επιβάρυνση της ηπατικής λειτουργίας, με αύξηση μόνο των τρανσαμινασών (ALT και AST) στις 6 ώρες και μόνο της αλκαλικής φωσφατάσης στις 24 ώρες.

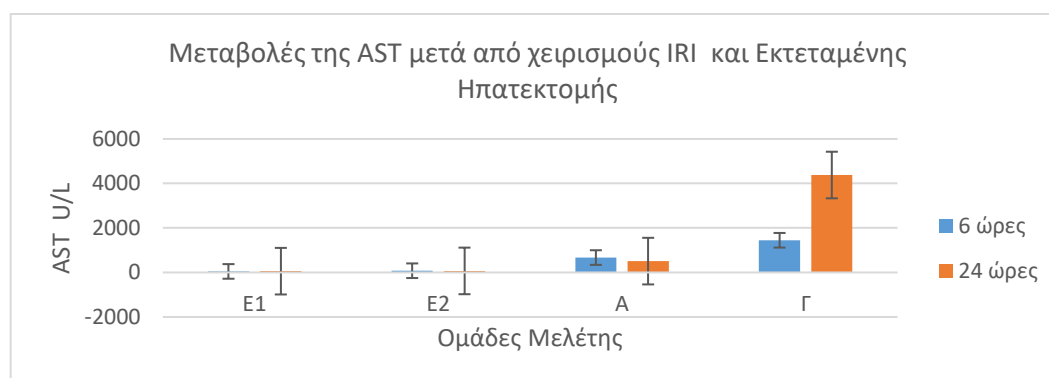
Η ομάδα των φυσιολογικών επίμυων E1 παρουσίασε αυξημένη παραγωγή της IL6 στο αίμα στις 24 ώρες, καθώς και αυξημένη παραγωγή NO στον ηπατικό ιστό, στις 6 και 24 ώρες, σε σχέση με την E2. Από τα ιστοπαθολογικά ευρήματα στην ομάδα E1 δεν παρατηρήθηκε καθόλου νέκρωση, ισχαιμία ή απόπτωση μετά τους χειρισμούς ελέγχου (Sham operation) στις 6 ώρες ή στις 24 ώρες. Αντίθετα, παρατηρήθηκε ήπια φλεγμονή (μια εστία ουδετεροφιλικής διήθησης) στο 33% των ζωικών προτύπων στις 6 ώρες και στο 16.7% στις 24 ώρες. Στους επίμυες με ηπατική στεάτωση της ομάδας ελέγχου E2, επίσης δεν παρατηρήθηκε νέκρωση ή συμφόρηση, υπήρχε όμως ήπια εκφυλιστική εικόνα των ηπατοκυττάρων, πιθανώς οφειλόμενη σε αυξημένη απόπτωση, σε πολύ μικρό ποσοστό (2-3%). Συγχρόνως, υπήρχε ήπια φλεγμονώδης διήθηση (1-2 εστίες κυρίως μονοκυτταρικής και σπανιότερα ουδετεροφιλικής διήθησης ανά οπτικό πεδίο) στο 66% των ζωικών προτύπων τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες μετά τον χειρισμό ελέγχου (Sham operation).

#### ***4.4.2 Η επίδραση του χειρισμού της 30 λεπτής ισχαιμίας-επαναιμάτωσης (IRI) στην εκτεταμένη ηπατεκτομή σε φυσιολογικούς επίμυες και επίμυες με ηπατική στεάτωση***

Για να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την επίδραση του χειρισμού IRI (βλάβη από παρατεταμένη 30λεπτη ηπατική ισχαιμία και επαναιμάτωση) που πραγματοποιείται συνήθως κατά τη διάρκεια της ηπατεκτομής και πως επηρεάζει το ήπαρ με λιπώδη διήθηση (ηπατική στεάτωση), πραγματοποιήθηκαν συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων ελέγχου E1 (φυσιολογικοί επίμυες) και E2 (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε επέμβαση ελέγχου (SHAM operation) και των ομάδων Α (φυσιολογικοί επίμυες) και Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε χειρισμούς πρόκλησης IRI και εκτεταμένης ηπατεκτομής.

Από την μελέτη των αποτελεσμάτων στο αίμα της AST, έγινε αντιληπτή η ισχυρά στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) στις 6 ώρες για την ομάδα E1 συγκριτικά με την ομάδα Α. Ομοίως, και από την μελέτη των αποτελεσμάτων

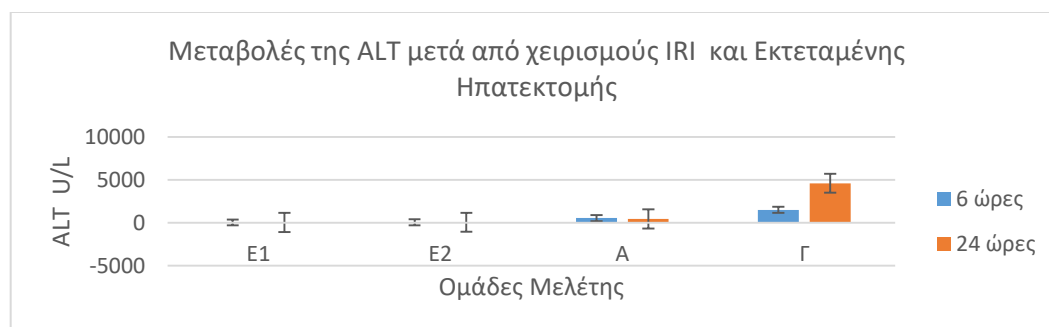
στο αίμα της AST στις 24 ώρες για την ομάδα E1 συγκριτικά με την ομάδα A, έγινε αντιληπτή η στατιστικά σημαντική επιβάρυνση ( $p=0.001$ ) με τις υψηλότερες τιμές για την ομάδα A. Ομοίως, η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου E2, τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες. Οι ομάδες A (φυσιολογικοί επίμυες) και Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν μόνο σε χειρισμούς πρόκλησης IRI και εκτεταμένης ηπατεκτομής, παρουσίασαν ισχυρή στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) αύξηση των τιμών της AST από τις 6 στις 24 ώρες. Συγκρίνοντας δε τις τιμές της AST μεταξύ των δυο ομάδων (A και Γ), μόνο στις 24 ώρες παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά ( $p=0.008$ ) αυξημένες τιμές στην ομάδα Γ σε σχέση με την A.



**Σχήμα 30.** Διακύμανση των τιμών της AST στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2. Πολύ υψηλές τιμές για την ομάδα Γ με ηπατική στεάτωση.

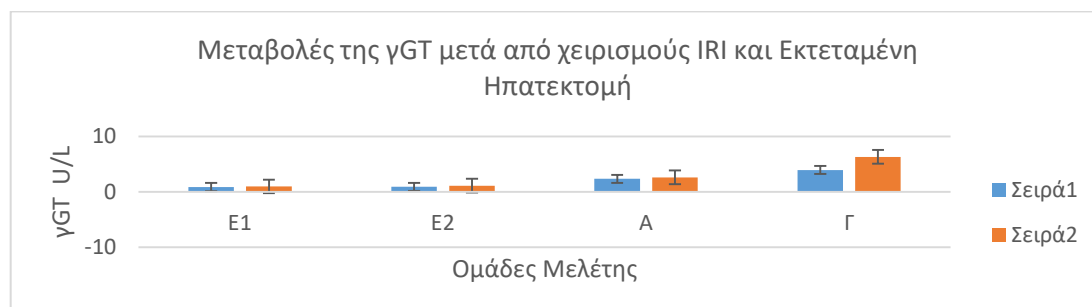
Από την μελέτη των τιμών στο αίμα της ALT, παρατηρήθηκε ισχυρή στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ) των τιμών στις 6 ώρες, με τη ομάδα E1 να παρουσιάζει εξαιρετικά χαμηλές τιμές σε σχέση με την ομάδα A. Ομοίως, και από την μελέτη των τιμών στο αίμα της ALT στις 24 ώρες, παρατηρήθηκαν για την ομάδα E1 στατιστικά σημαντικά ( $p=0.002$ ) χαμηλότερες τιμές σε σύγκριση με την ομάδα A. Ομοίως, η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) υψηλότερες τιμές της ALT σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου E2, τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες. Οι ομάδες A (φυσιολογικοί επίμυες) και Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν μόνο σε χειρισμούς πρόκλησης IRI και εκτεταμένης ηπατεκτομής, παρουσίασαν ισχυρή στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) αύξηση των τιμών της ALT από τις 6 στις 24 ώρες. Συγκρίνοντας δε τις τιμές της ALT μεταξύ των δυο ομάδων (A και Γ), μόνο στις

24 ώρες παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά ( $p=0.005$ ) αυξημένες τιμές της ALT στην ομάδα Γ σε σχέση με την Α.



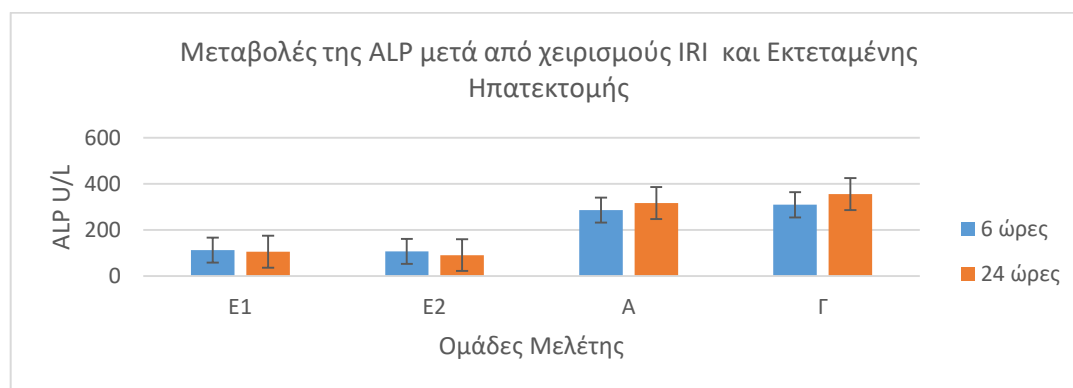
**Σχήμα 31.** Διακύμανση των τιμών της ALT στο αίμα των επίμυων των ομάδων Α (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου Ε1 και Ε2. Πολύ υψηλές τιμές για την ομάδα Γ με ηπατική στεάτωση.

Από την μελέτη των τιμών στο αίμα της γGT, παρατηρήθηκε ισχυρή στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.0005$ ) των τιμών, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες μεταξύ των ομάδων Ε1 και Α, με τη ομάδα Ε1 να παρουσιάζει εξαιρετικά χαμηλές τιμές σε σχέση με την ομάδα Α. Ομοίως, η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) υψηλότερες τιμές της γGT στις 6 ώρες και στατιστικά σημαντικά ( $p=0.001$ ) υψηλότερες τιμές στις 24 ώρες, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου Ε2. Συγκρίνοντας δε τις τιμές της γGT μεταξύ των ομάδων Α (φυσιολογικοί επίμυες) και Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν μόνο σε χειρισμούς πρόκλησης IRI και εκτεταμένης ηπατεκτομής, στις 6 ώρες η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά ( $p<0.0005$ ) μεγαλύτερες τιμές της γGT και ομοίως στις 24 ώρες πάλι η ομάδα Γ παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p=0.01$ ) αυξημένες τιμές σε σχέση πάντα με την ομάδα Α.



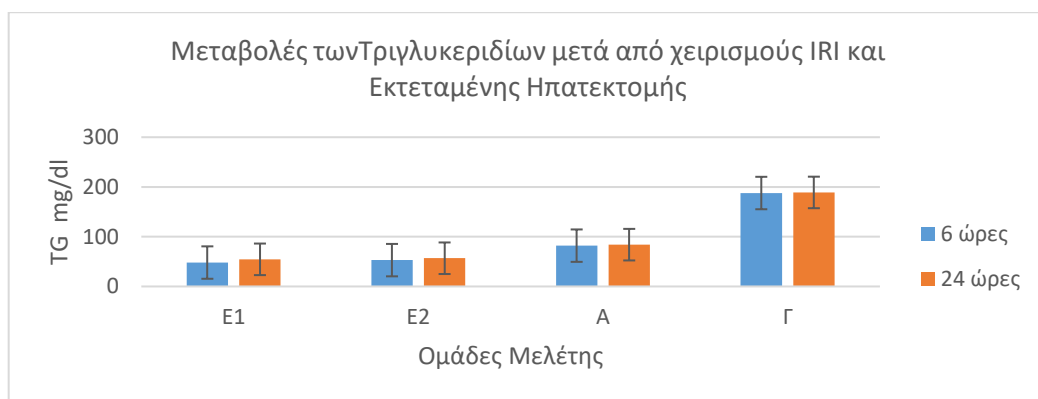
**Σχήμα 16.** Διακύμανση των τιμών της γGT στο αίμα των επίμυων των ομάδων Α (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου Ε1 και Ε2. Χαρακτηριστικά υψηλότερη διακύμανση στην ομάδα Γ.

Από την μελέτη των τιμών στο αίμα της ALP, παρατηρήθηκε ισχυρή στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0005$ ) των τιμών, στις 6 ώρες και στις 24 ώρες, με τη ομάδα E1 να παρουσιάζει εξαιρετικά χαμηλές τιμές σε σχέση με την ομάδα A. Ομοίως, η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) υψηλότερες τιμές της ALP σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου E2, τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες. Οι ομάδες A (φυσιολογικοί επίμυες) και Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν μόνο σε χειρισμούς πρόκλησης IRI και εκτεταμένης ηπατεκτομής, εμφάνισαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση ( $p = 0.03$ ) των τιμών της ALT, μόνο στις 24 ώρες, με αυξημένες τιμές της ALP στην ομάδα Γ σε σχέση με την A.



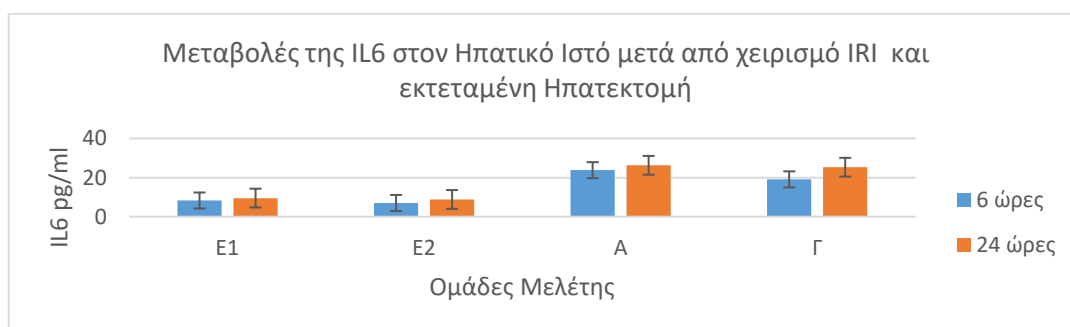
**Σχήμα 17.** Διακύμανση των τιμών της ALP στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2.

Από τους λοιπούς δείκτες μόνο για τα τριγλυκερίδια γίνεται αντιληπτή στατιστικά σημαντική αύξηση ( $p = 0.002$ ) από τις 6 στις 24 ώρες για την ομάδα A των φυσιολογικών επίμυων. Αντίθετα, η ομάδα Γ με επίμυες με ηπατική στεάτωση δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική αύξηση των τριγλυκεριδίων, από τις 6 στις 4 ώρες, αλλά εμφάνισε σταθερά υψηλές τιμές και μάλιστα, ισχυρά στατιστικά ( $p < 0.0005$ ) αυξημένες σε σύγκριση με την ομάδα A τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες. Στατιστικά σημαντική ήταν και η διαφορά των τριγλυκεριδίων μεταξύ της ομάδας E1 και A, με την A να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές των τριγλυκεριδίων, τόσο στις 6 ώρες ( $p = 0.03$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p = 0.002$ ). Ομοίως, στατιστικά σημαντική ήταν και η διαφορά των τριγλυκεριδίων μεταξύ της ομάδας E2 και Γ, με την Γ να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές των τριγλυκεριδίων, τόσο στις 6 ώρες ( $p < 0.0005$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p = 0.001$ ).



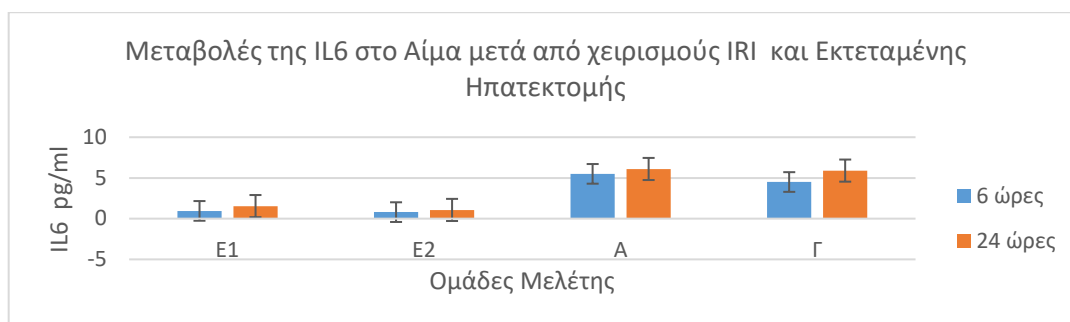
**Σχήμα 18.** Διακύμανση των τιμών των Τριγλυκεριδίων στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2.

Η τιμές της IL6 παρουσίασαν ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0005$ ) αύξηση από τις 6 στις 24 ώρες για την ομάδα Γ στον ηπατικό ιστό και στατιστικά σημαντική αύξηση από τις 6 στις 24 ώρες στο αίμα των επίμυων των ομάδων A ( $p = 0.03$ ) και Γ ( $p = 0.002$ ). Επίσης, ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) υψηλότερες τιμές της IL6 στον ηπατικό ιστό και στο αίμα, παρουσίασε η ομάδα A σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου E1, τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες.



**Σχήμα 35.** Διακύμανση των τιμών της IL6 στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών της IL6 στην ομάδα A των φυσιολογικών επίμυων στις 6 ώρες, σε σύγκριση με την ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση.

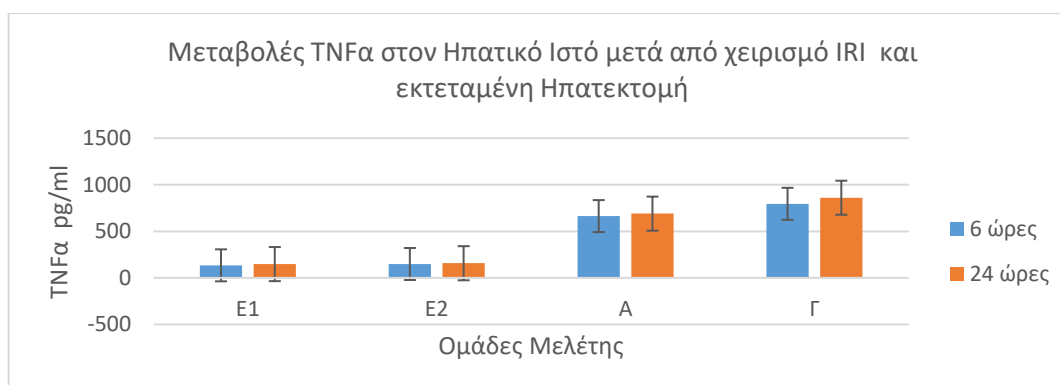
Οι τιμές της IL6 στον ηπατικό ιστό και στο αίμα στις 6 ώρες μεταξύ των ομάδων E2 και Γ ανέδειξαν την ύπαρξη ισχυρά στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p < 0.0005$ ), με σαφώς αυξημένες τις τιμές στην ομάδα Γ. Ομοίως, ισχυρά στατιστικά σημαντικά αυξημένες ( $p < 0.0005$ ) ήταν και οι τιμές της IL6 στις 24 ώρες, τόσο στον ηπατικό ιστό όσο και στο αίμα, στην ομάδα Γ σε σχέση με την ομάδα E2.



**Σχήμα 19.** Διακύμανση των τιμών της IL6 στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών της IL6 στην ομάδα A των φυσιολογικών επίμυων στις 6 ώρες, σε σύγκριση με την ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση.

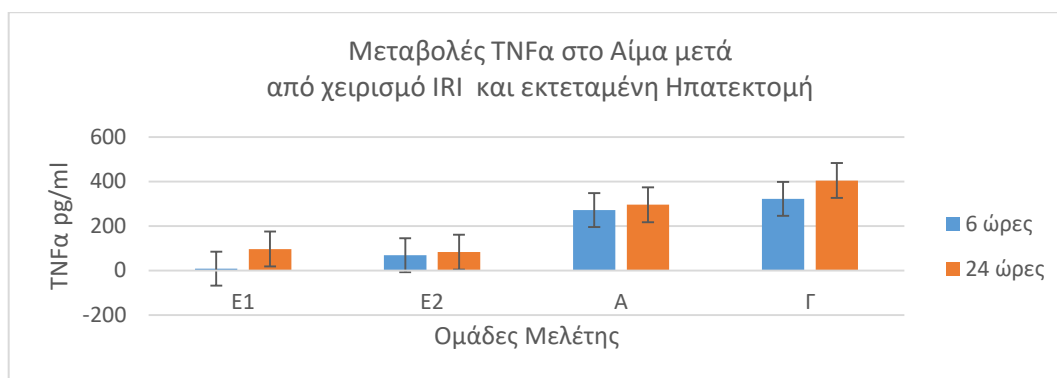
Επίσης, από την μελέτη της IL6, τόσο του ηπατικού ιστού όσο και του αίματος, αναδείχθηκε η ύπαρξη ισχυρής στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p < 0.0005$ ) μεταξύ των 6 ωρών και των 24 ωρών στην ομάδα E2. Συγκρίνοντας τις δυο ομάδες, A (φυσιολογικοί επίμυες) και Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση), παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.002$ ) υψηλότερες τιμές της IL6 στον ηπατικό ιστό της ομάδας A, μόνο στις 6 ώρες. Στο αίμα όμως, πάλι η ομάδα A παρουσίασε στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές της IL6, τόσο στις 6 ώρες ( $p = 0.001$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p = 0.05$ ) από την ομάδα Γ.

Από την μελέτη των τιμών του TNFα παρατηρήθηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0005$ ) αύξηση του στην ομάδα Γ και στατιστικά σημαντική ( $p = 0.04$ ) αύξησή του στην ομάδα A, από τις 6 στις 24 ώρες, μόνο στο αίμα.



**Σχήμα 37.** Διακύμανση των τιμών του TNFα στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών του TNFα στην ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση.



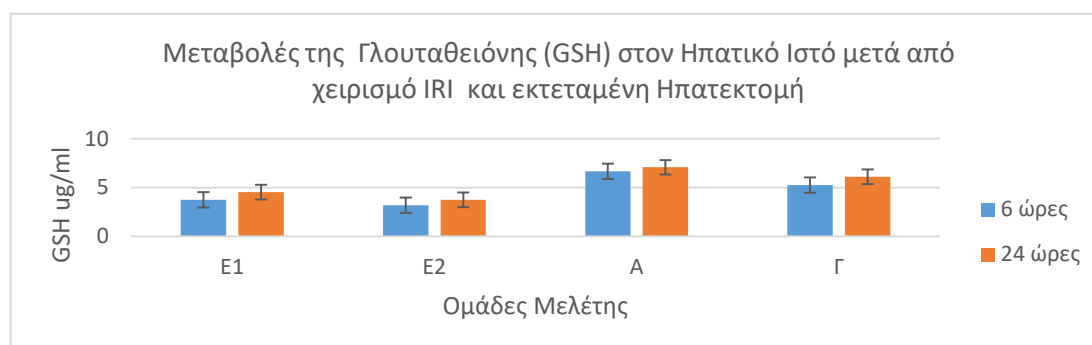


**Σχήμα 20.** Διακύμανση των τιμών του TNFα στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών του TNFα στην ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση.

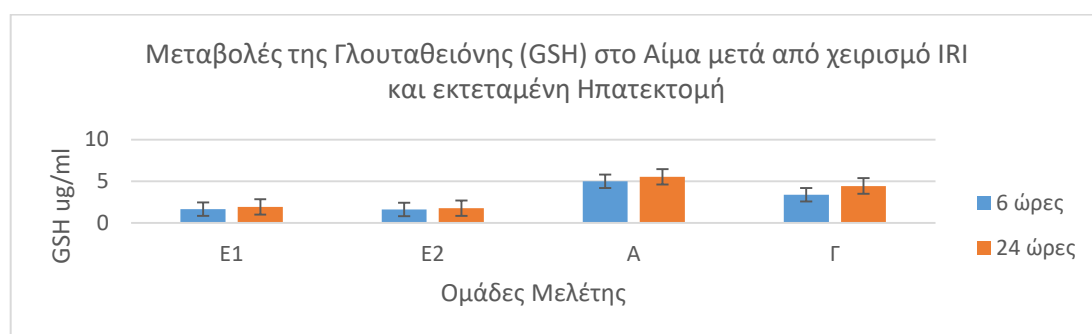
Επίσης, ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) υψηλότερες τιμές του TNFα στον ηπατικό ιστό και στο αίμα, παρουσίασε η ομάδα A σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου E1, τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες. Οι τιμές του TNFα, στον ηπατικό ιστό και στο αίμα, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, παρουσίασαν την ύπαρξη ισχυρά στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p < 0.0005$ ) μεταξύ των ομάδων E2 και Γ, με αυξημένη τιμή TNFα, τόσο στον ηπατικό ιστό όσο και στο αίμα, στην ομάδα Γ και στις δυο μελετώμενες χρονικές περιόδους. Από τη συσχέτιση των τιμών του TNFα στον ηπατικό ιστό μεταξύ των ομάδων A και Γ, προέκυψαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερες τιμές στην ομάδα Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) σε σύγκριση με την ομάδα A (φυσιολογικοί επίμυες) τόσο στις 6 ώρες ( $p = 0.01$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p = 0.001$ ). Παρόμοια διακύμανση παρουσίασαν και οι τιμές του TNFα στο αίμα των ίδιων ομάδων, με την ομάδα Γ να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερες τιμές, τόσο στις 6 ώρες ( $p = 0.02$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p < 0.0005$ ), από την ομάδα A.

Από την μελέτη των τιμών της GSH παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) υψηλότερες τιμές της στον ηπατικό ιστό και στο αίμα, της ομάδα A σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου E1, τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες. Επίσης, οι τιμές της GSH, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, παρουσίασαν την ύπαρξη ισχυρά στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p < 0.0005$ ) μεταξύ των ομάδων E2 και Γ, με αυξημένη τιμή της GSH, τόσο στον ηπατικό ιστό όσο και στο αίμα, στην ομάδα Γ και στις δυο μελετώμενες χρονικές περιόδους. Από τη συσχέτιση των τιμών της GSH στον ηπατικό ιστό μεταξύ

των ομάδων Α και Γ, προέκυψαν στατιστικά σημαντικά ( $p=0.001$ ) μεγαλύτερες τιμές στην ομάδα Α σε σύγκριση με την ομάδα Γ, μόνο στις 6 ώρες.



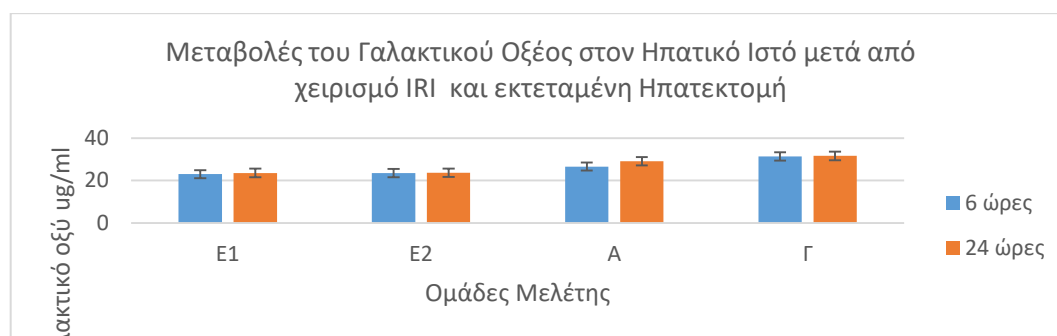
**Σχήμα 21.** Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων Α (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης στην ομάδα Α των φυσιολογικών επίμυων, σε σύγκριση με την ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση.



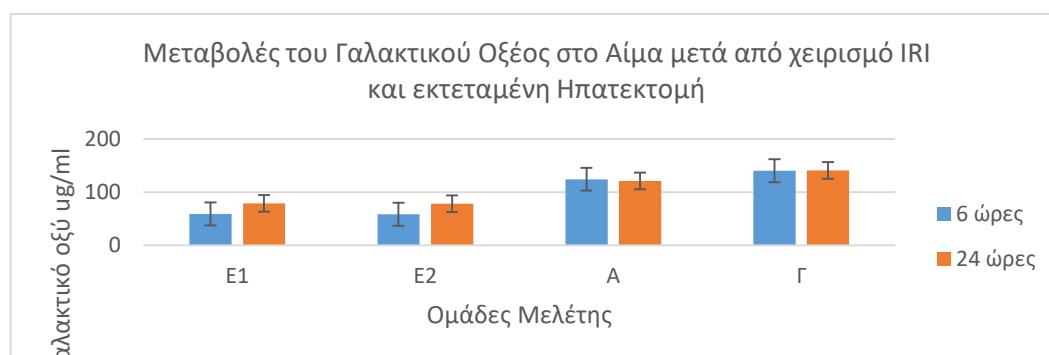
**Σχήμα 40.** Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων Α (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης στην ομάδα Α των φυσιολογικών επίμυων, σε σύγκριση με την ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση.

Στο αίμα, πάλι η ομάδα Α παρουσίασε στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές της GSH σε σύγκριση με την ομάδα Γ, τόσο στις 6 ώρες ( $p<0.0005$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p=0.05$ ). Από την μελέτη των τιμών του γαλακτικού οξέος παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική ( $p=0.003$ ) αύξηση του μόνο στην ομάδα Α και στον ηπατικό ιστό των φυσιολογικών επίμυων. Η ομάδα Α παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) υψηλότερες τιμές του γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό και στο αίμα, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου E1, τόσο στις 6 όσο και στις 24 ώρες.

Οι τιμές του γαλακτικού οξέος, στον ηπατικό ιστό και στο αίμα, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, παρουσίασαν την ύπαρξη ισχυρά στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p < 0.0005$ ) μεταξύ των ομάδων E2 και Γ, με αυξημένη τιμή του γαλακτικού οξέος, τόσο στον ηπατικό ιστό όσο και στο αίμα, στην ομάδα Γ και στις δυο μελετώμενες χρονικές περιόδους. Από τη συσχέτιση των τιμών του γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό μεταξύ των ομάδων A και Γ, προέκυψαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερες τιμές στην ομάδα Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) σε σύγκριση με την ομάδα A (φυσιολογικοί επίμυες) τόσο στις 6 ώρες ( $p < 0.0005$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p = 0.003$ ). Παρόμοια διακύμανση παρουσίασαν και οι τιμές του γαλακτικού οξέος στο αίμα των ίδιων ομάδων, με την ομάδα Γ να παρουσιάζει ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) μεγαλύτερες τιμές, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες, από την ομάδα A.



**Σχήμα 41.** Διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση, που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2. Οριακά υψηλότερη διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος στην ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση.



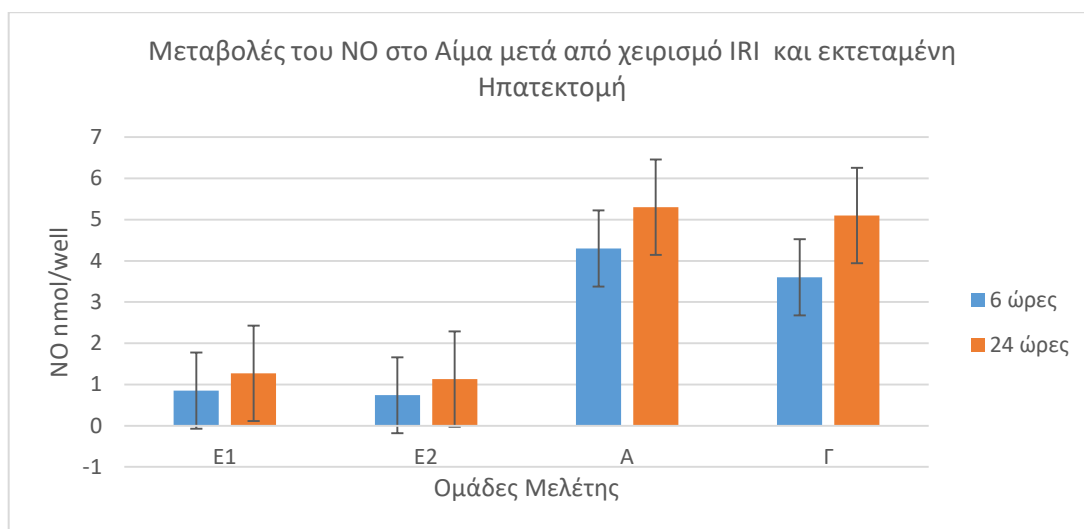
**Σχήμα 42.** Διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2. Αξιοσημείωτα υψηλότερη διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος στην ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση.

Από την μελέτη των τιμών του NO παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση από τις 6 ώρες στις 24 ώρες μόνο στο αίμα των ομάδων Α ( $p=0.01$ ) και Γ ( $p=0.001$ ). Η ομάδα Α παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) υψηλότερες τιμές του NO στον ηπατικό ιστό στις 24 ώρες και στο αίμα στις 6 και στις 24 ώρες, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου Ε1. Οι τιμές του NO για τον ηπατικό ιστό στις 6 ώρες ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένες ( $p=0.002$ ) στην ομάδα Γ σε σχέση με την ομάδα Ε2.

Ομοίως, στατιστικά σημαντική ( $p=0.004$ ) αυξημένες ήταν οι τιμές του NO στον ηπατικό ιστό στις 24 ώρες για την ομάδα Γ σε σχέση με την ομάδα Ε2. Οι τιμές του NO στο αίμα στις 6 ώρες στην ομάδα Γ, παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική αύξηση ( $p=0.001$ ) σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές για την ομάδα Ε2. Αντίστοιχα, ισχυρή στατιστικά σημαντική αύξηση ( $p<0.0005$ ) παρουσίασαν οι τιμές του NO στο αίμα στις 24 ώρες για την ομάδα Γ σε σχέση με την ομάδα Ε2. Τέλος, οι τιμές του NO μόνο στον ηπατικό ιστό παρουσίασαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των ομάδων Α και Γ. Ειδικότερα, στον ηπατικό ιστό η ομάδα Α παρουσίασε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερες τιμές του NO, στις 6 ώρες ( $p=0.03$ ) και στις 24 ώρες ( $p=0.04$ ), σε σχέση με την ομάδα Γ.



**Σχήμα 43.** Διακύμανση των τιμών του NO στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων Α (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου Ε1 και Ε2. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών του NO στην ομάδα Α των φυσιολογικών επίμυων, σε σύγκριση με την ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση.



**Σχήμα 44.** Διακύμανση των τιμών του NO στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου E1 και E2. Υψηλότερη διακύμανση των τιμών του NO στην ομάδα A των φυσιολογικών επίμυων στις 6 ώρες, σε σύγκριση με την ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση.

Από τα ιστοπαθολογικά ευρήματα στην ομάδα A των φυσιολογικών επίμυων στους οποίους πραγματοποιήθηκαν χειρισμοί βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης (IRI) και εκτεταμένης ηπατεκτομής, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε ηπατοκυτταρική νέκρωση σε ποσοστό 45% των ηπατοκυττάρων, ενώ στο εναπομείναν μη νεκρωμένο ηπατικό παρέγχυμα το 55% παρουσίαζε αιματική συμφόρηση και ισχαιμία, με μέτρια φλεγμονή (4 εστίες φλεγμονής ανά οπτικό πεδίο), καθώς και έντονη οιδηματώδη εκφύλιση στο 23% των ηπατοκυττάρων. Στις 24 ώρες η νέκρωση ανήλθε σε ποσοστό 47.5%, ενώ το μη νεκρωμένο παρέγχυμα παρουσίαζε σε ποσοστό περίπου 45% συμφόρηση και ισχαιμία, σοβαρή φλεγμονή με περισσότερες από 6 εστίες φλεγμονής.

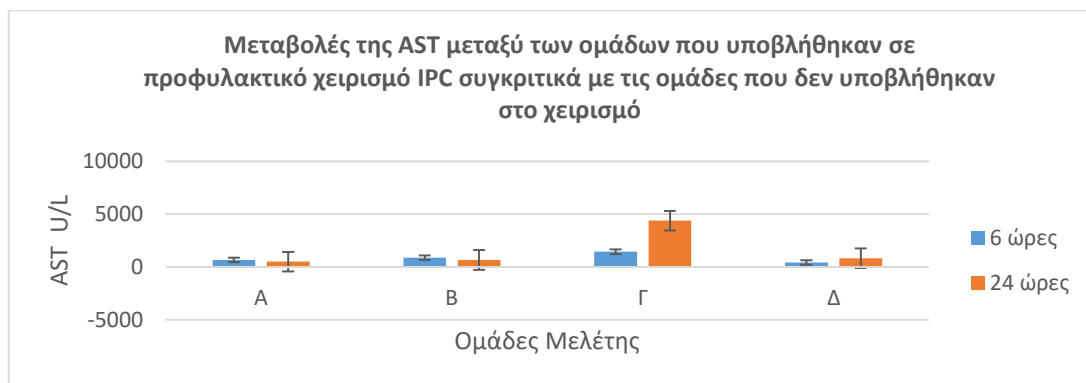
Στην ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε χειρισμούς πρόκλησης βλάβης ισχαιμίας – επαναιμάτωσης (IRI) και εκτεταμένης ηπατεκτομής, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε εκτεταμένη ηπατοκυτταρική νέκρωση και κυτταρική λύση σε ποσοστό που προσέγγιζε το 60% του ηπατικού παρεγχύματος, με συνοδό μεγάλου βαθμού ηπατική ισχαιμία σε ποσοστό περίπου 40-45% και έντονη φλεγμονώδη διήθηση (με >10 εστίες ανά εξεταζόμενο οπτικό πεδίο). Στις 24 ώρες από τους χειρισμούς πρόκλησης IRI και εκτεταμένης ηπατεκτομής, παρατηρήθηκε ακόμα μεγαλύτερη

ηπατοκυτταρική νέκρωση (75-80% του ηπατικού παρεγχύματος), που συνοδεύονταν από εκτεταμένη εικόνα καταστροφής της αρχιτεκτονικής του ηπατικού παρεγχύματος. Επίσης, υπήρχε έντονη διάχυτη φλεγμονώδης διήθηση και ισχαιμία που επεκτεινόταν σχεδόν στο 70-80% του μη νεκρωμένου ηπατικού παρεγχύματος.

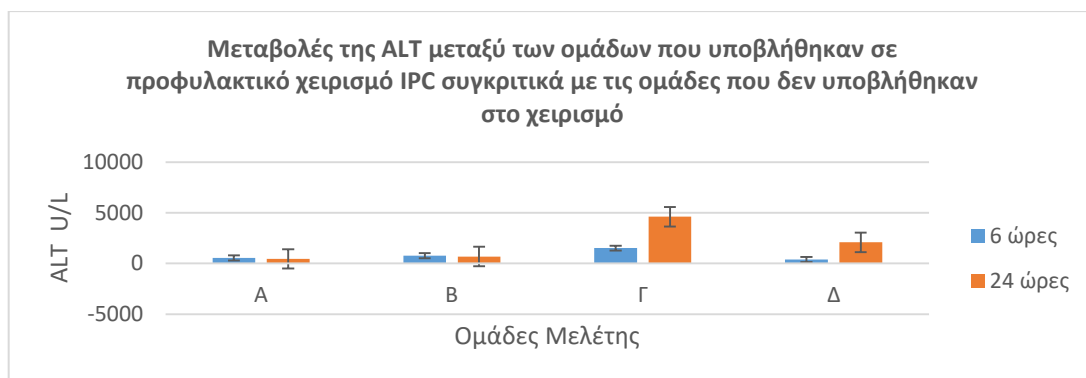
#### ***4.4.3 Η επίδραση του τριπλού χειρισμού IPC 24 ώρες πριν την πρόκληση ηπατικής βλάβης ισχαιμίας - επαναιμάτωσης (IRI) και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής σε επίμυες με ηπατική στεάτωση και σε φυσιολογικούς επίμυες.***

Για να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την επίδραση του τριπλού χειρισμού της προφυλακτικής ισχαιμικής προετοιμασίας του ήπατος (IPC) έναντι της βλάβης ισχαιμίας – επαναιμάτωσης (IRI) και της εκτεταμένης ηπατεκτομής, που παρατηρείται συνήθως κατά τη διάρκεια των μειζόνων ηπατικών επεμβάσεων και πως επηρεάζει το ήπαρ με λιπώδη διήθηση (ηπατική στεάτωση), πραγματοποιήθηκαν συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων Α και Β με φυσιολογικούς επίμυες και των ομάδων Γ και Δ αποτελούμενες από επίμυες με ηπατική στεάτωση. Έγιναν συγκρίσεις κατά ζεύγη μεταξύ των ομάδων Α και Β, Γ και Δ, καθώς και Β και Δ, στις 6 και στις 24 ώρες, για τις μελετώμενες παραμέτρους.

Από την μελέτη των τιμών στο αίμα της AST και της ALT, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες στους επίμυες με ηπατική στεάτωση, έγινε αντιληπτή η ισχυρή στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) μειωμένη τιμή και των δυο παραμέτρων στην ομάδα Δ σε σχέση με την ομάδα Γ. Παρόμοια, οι τρανσαμινάσες AST και της ALT στις 6 ώρες, παρουσίασαν στους φυσιολογικούς επίμυες, ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) μεγαλύτερες τιμές στην ομάδα Β σε σύγκριση με την ομάδα Α. Αντίστοιχα, και στις 24 ώρες η ομάδα Β παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.001$ ) υψηλότερες τιμές της AST από την ομάδα Α και ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) υψηλότερες τιμές της ALT, επίσης από την ομάδα Α. Οι ομάδες Α και Β παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση των τιμών τους από τις 6 στις 24 ώρες, τόσο για την AST όσο και για την ALT.



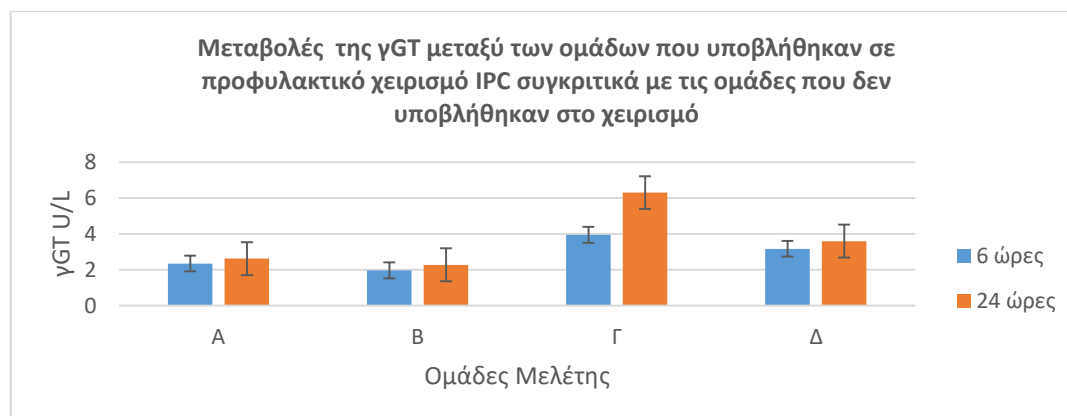
**Σχήμα 45.** Διακύμανση των τιμών της AST στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Πολύ υψηλές τιμές για την ομάδα Γ με ηπατική στεάτωση.



**Σχήμα 46.** Διακύμανση των τιμών της ALT στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Πολύ υψηλές τιμές για την ομάδα Γ με ηπατική στεάτωση.

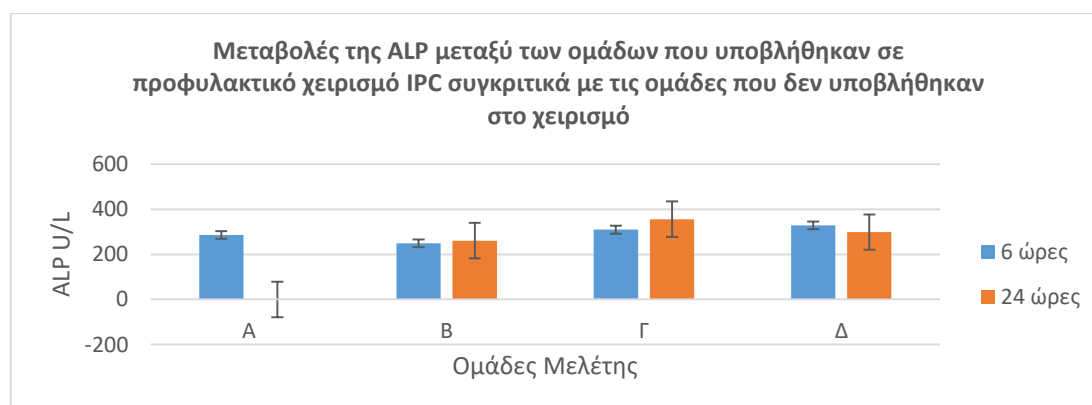
Τέλος, συγκρίνοντας τις ομάδες B των φυσιολογικών επίμυων και Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που αμφότερες είχαν υποστεί προφυλακτικό τριπλό χειρισμό IPC, 24 ώρες πριν την πραγματοποίηση του χειρισμού πρόκλησης IRI και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις και για τις δυο τρανσαμινάσες. Ειδικότερα, η ομάδα Δ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) μεγαλύτερες τιμές της AST στις 6 ώρες και στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.02$ ) μεγαλύτερες τιμές της AST στις 24 ώρες σε σύγκριση με την ομάδα B. Παρομοίως, η ομάδα Δ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) μεγαλύτερες τιμές της ALT σε σχέση με την ομάδα B, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες. Από την μελέτη των τιμών στο αίμα της γGT, παρατηρήθηκαν οριακά στατιστικά

σημαντικά μεγαλύτερες τιμές στην ομάδα A σε σχέση με την ομάδα B, τόσο στις 6 ώρες ( $p=0.05$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p=0.04$ ). Επίσης, στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές της  $\gamma$ GT παρουσίασε και η ομάδα Γ σε σύγκριση με την ομάδα Δ, τόσο στις 6 ώρες ( $p=0.009$ ) όσο και στις 24 ώρες ( $p=0.05$ ). Τέλος, η ομάδα Δ με τους επίμους με ηπατική στεάτωση παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) πολύ μεγαλύτερες τιμές της  $\gamma$ GT σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς επίμους της ομάδα B, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 26 ώρες.



**Σχήμα 47.** Διακύμανση των τιμών της  $\gamma$ GT στο αίμα των επίμους των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμους με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Πολύ υψηλές τιμές της  $\gamma$ GT για την ομάδα Γ με ηπατική στεάτωση στις 24 ώρες.

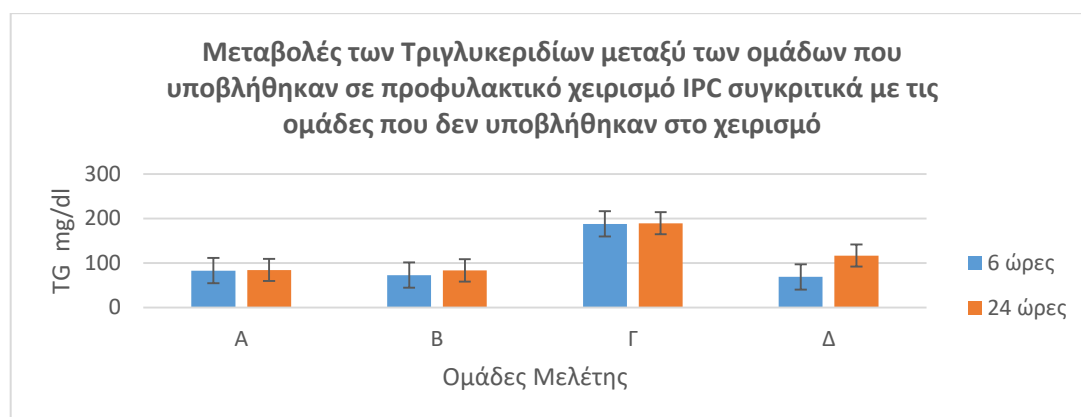
Από την μελέτη των τιμών στο αίμα της ALP, παρατηρήθηκαν ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) υψηλότερες τιμές της στην ομάδα A έναντι της ομάδας B. Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική ( $p=0.001$ ) αύξηση των τιμών από τις 6 στις 24 ώρες μόνο για την ομάδα A.



**Σχήμα 48.** Διακύμανση των τιμών της ALP στο αίμα των επίμους των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμους με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.



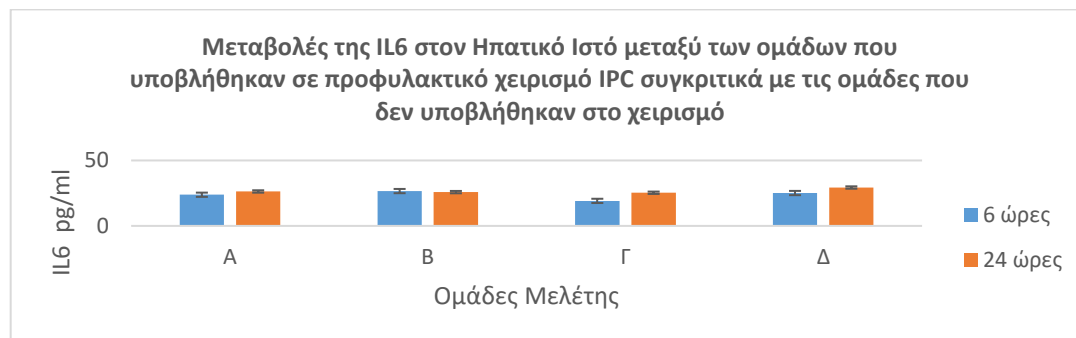
Τέλος, μόνο στις 6 ώρες η ομάδα Δ παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p=0.002$ ) μεγαλύτερες τιμές της ALP σε σχέση με την ομάδα Β. Από τους λοιπούς δείκτες, για τη χοληστερόλη η ομάδα Α παρουσίασε στις 6 ώρες ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με την ομάδα Β, ενώ στις 24 ώρες η ομάδα Δ παρουσίασε οριακά στατιστικά σημαντικά ( $p=0.02$ ) μεγαλύτερες τιμές χοληστερόλης αίματος σε σχέση με την ομάδα Γ. Παρόμοια, για τα τριγλυκερίδια η ομάδα Γ παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) τις υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με την ομάδα Δ, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες. Τέλος, η ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση, παρουσίασε στις 24 ώρες ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) μεγαλύτερες τιμές για τα τριγλυκερίδια σε σύγκριση με την ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων.



**Σχήμα 22.** Διακύμανση των τιμών των Τριγλυκεριδίων στο αίμα των επίμυων των ομάδων Α (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων Β (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Υψηλές τιμές για την ομάδα Γ με ηπατική στεάτωση.

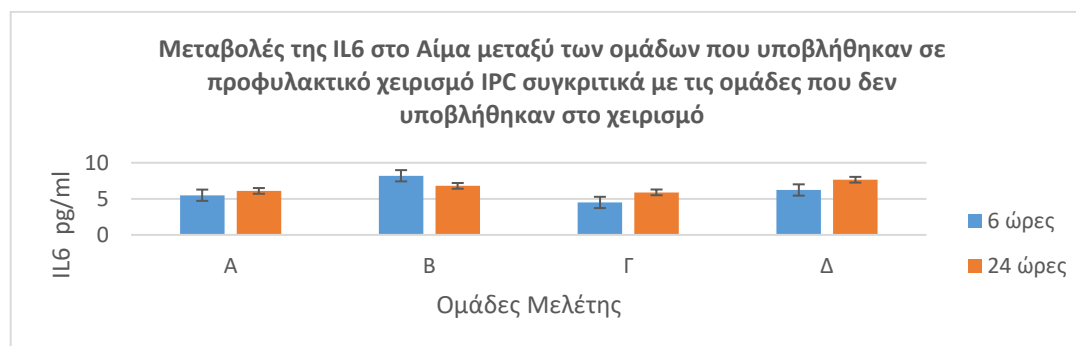
Από την μελέτη της τιμής της IL6 στην ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση, αναδείχθηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής ( $p=0.004$ ) αύξησης της μεταξύ των 6 ωρών και των 24 ωρών στον ηπατικό ιστό και ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) αύξησης της μεταξύ 6 ωρών και 24 ωρών στο αίμα. Παρόμοια ήταν και η διακύμανση της IL6 για την ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων με στατιστικά σημαντική ( $p=0.004$ ) αύξηση της μεταξύ των 6 ωρών και των 24 ωρών στον ηπατικό ιστό και ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p<0.0005$ ) αύξηση της μεταξύ 6 ωρών και 24 ωρών στο αίμα. Από τη μελέτη της IL6 του ηπατικού ιστού και του αίματος στις 6 ώρες και στις 24 ώρες μεταξύ των ομάδων Γ και Δ, αναδείχθηκε η ύπαρξη ισχυρής στατιστικά

σημαντικής συσχέτισης ( $p < 0.0005$ ), με αυξημένες τιμές στην ομάδα Δ και για τις δυο χρονικές περιόδους. Από την μελέτη της IL6 του ηπατικού ιστού στις 6 ώρες, η ομάδα Β παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) υψηλότερες τιμές σε σχέση με την ομάδα.



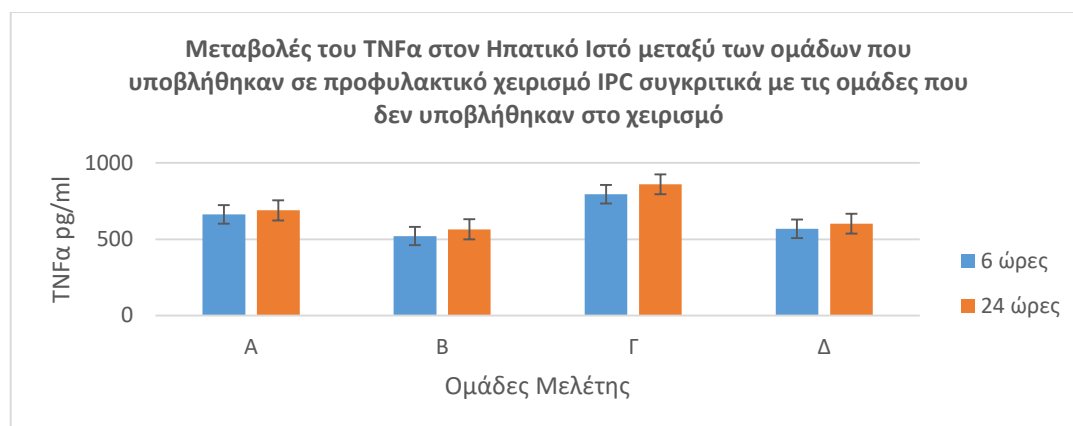
**Σχήμα 50.** Διακύμανση των τιμών της IL6 στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων Α (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων Β (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών για την ομάδα Δ με ηπατική στεάτωση σε σύγκριση με την αντίστοιχη ομάδα Γ και παρόμοια διακύμανση με τις ομάδες Α και Β.

Στο αίμα, οι ομάδες των φυσιολογικών επίμυων, παρουσίασαν μόνο στις 6 ώρες στατιστικά σημαντική συσχέτιση ( $p = 0.001$ ), με την ομάδα Β να παρουσιάζει υψηλότερες τιμές IL6 σε σχέση με την ομάδα Α. Τέλος, οι δύο ομάδες Β (φυσιολογικοί επίμυες) και Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό IPC, δεν παρουσίασαν καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση στο αίμα ή των ηπατικό ιστό, σε καμία χρονική περίοδο.

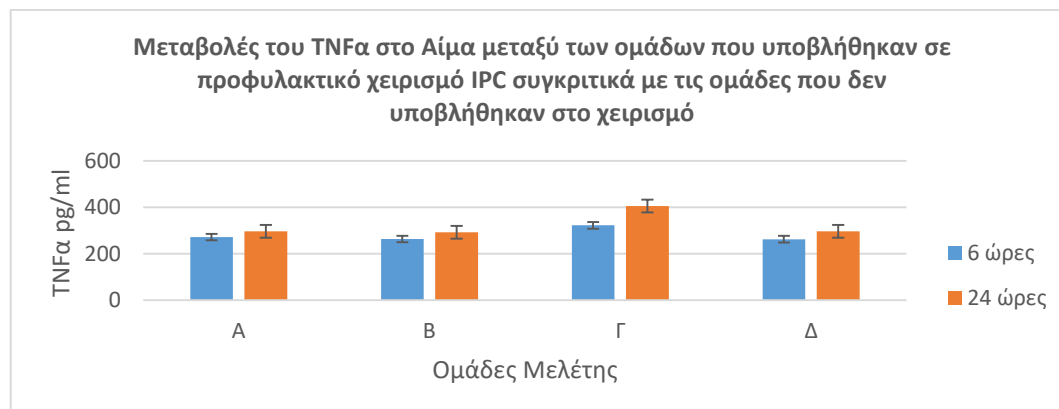


**Σχήμα 51.** Διακύμανση των τιμών της IL6 στο αίμα των επίμυων των ομάδων Α (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων Β (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Μεταξύ των ομάδων Β και Δ που υποβλήθηκαν σε IPC δεν παρατηρούνται σημαντικές διακυμάνσεις, ενώ αντίθετα και οι δύο ομάδες παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών της IL6 σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες Α και Γ. Χαρακτηριστική διαφορά μεταξύ των Β και Δ είναι ότι η ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων μειώνει τις τιμές της IL6 από τις 6 στις 24 ώρες, ενώ αντίθετα η ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση τις αυξάνει.

Από την μελέτη των μεταβολών της τιμής του TNFα στις ομάδες B και Δ αναδείχθηκε μόνο στο αίμα η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής ( $p=0.01$ ) αύξησης μεταξύ των 6 ωρών και των 24 ωρών για την ομάδα B και οριακά στατιστικά σημαντική ( $p=0.05$ ) αύξηση του μεταξύ 6 ωρών και 24 ωρών για την ομάδα Δ.



**Σχήμα 52.** Διακύμανση των τιμών του TNFα στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών για τις ομάδες A και Γ που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

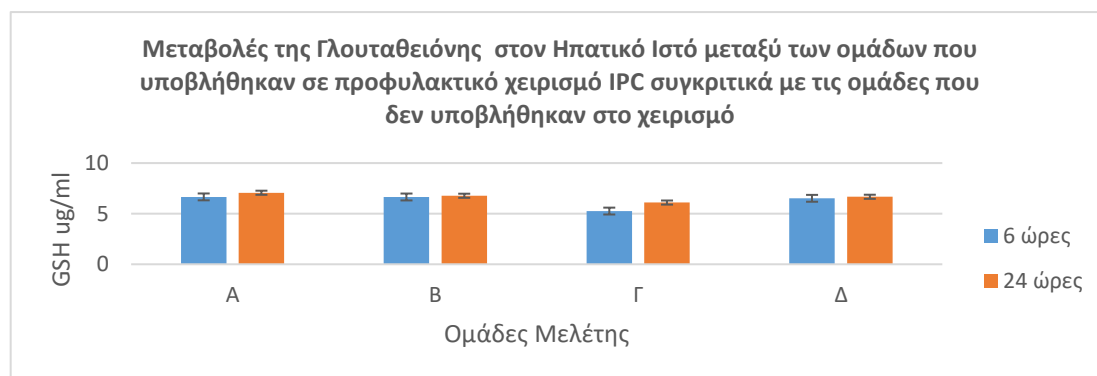


**Σχήμα 53.** Διακύμανση των τιμών του TNFα στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών για την ομάδα Γ με ηπατική στεάτωση στις 24 ώρες.

Από τη μελέτη των τιμών του TNFα στον ηπατικό ιστό των ομάδων A και B με φυσιολογικούς επίμυες, αναδείχθηκε, η ύπαρξη στατιστικά σημαντικά ( $p=0.03$ ) υψηλότερων τιμών στην ομάδα A στις 6 ώρες και ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p<0.0005$ ) υψηλότερων τιμών επίσης στην ομάδα A στις 24 ώρες, σε σύγκριση πάντα με την ομάδα B. Από την μελέτη του ηπατικού ιστού και του αίματος για

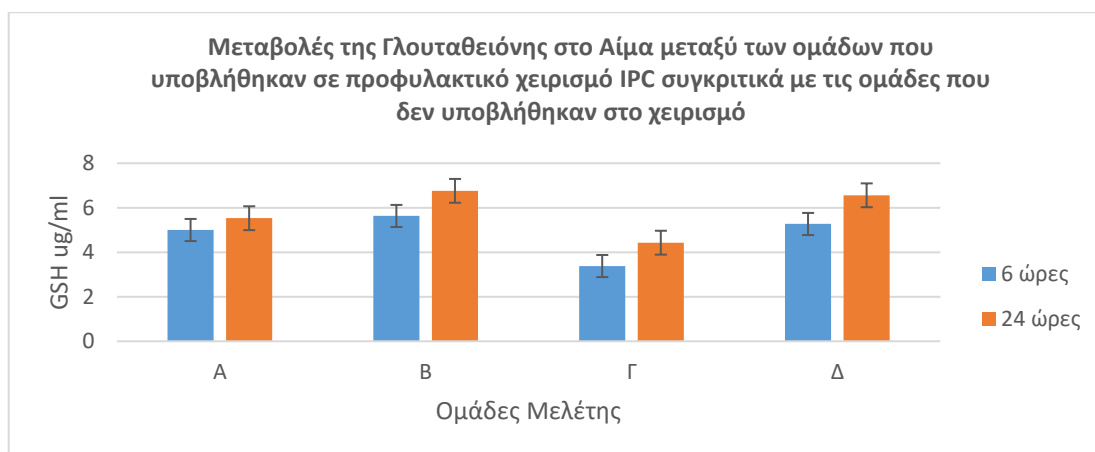
τον TNFα, μεταξύ των ομάδων Γ και Δ στις 6 ώρες, αναδείχθηκε η ύπαρξη ισχυρής στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p < 0.0005$ ) με σημαντικά μειωμένη τιμή στην ομάδα Δ. Από τη σύγκριση των τιμών του TNFα στον ηπατικό ιστό αλλά και στο αίμα, μεταξύ των ομάδων Γ και Δ στις 24 ώρες, αναδείχθηκε η ύπαρξη ισχυρής στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p < 0.0005$ ) με μειωμένη τιμή στην ομάδα Δ. Από τη συσχέτιση των ομάδων Β και Δ δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση για τις τιμές του TNFα, στον ηπατικό ιστό ή το αίμα.

Από την μελέτη των μεταβολών της τιμής της GSH (γλουταθειόνης) στον ηπατικό ιστό δεν προέκυψε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση για τις μελετώμενες ομάδες Α, Β, Γ και Δ. Από τη μελέτη της GSH στο αίμα αρχικά παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των τιμών της από τις 6 στις 24 ώρες για τις ομάδες Β ( $p = 0.002$ ) και Δ ( $p = 0.005$ ).



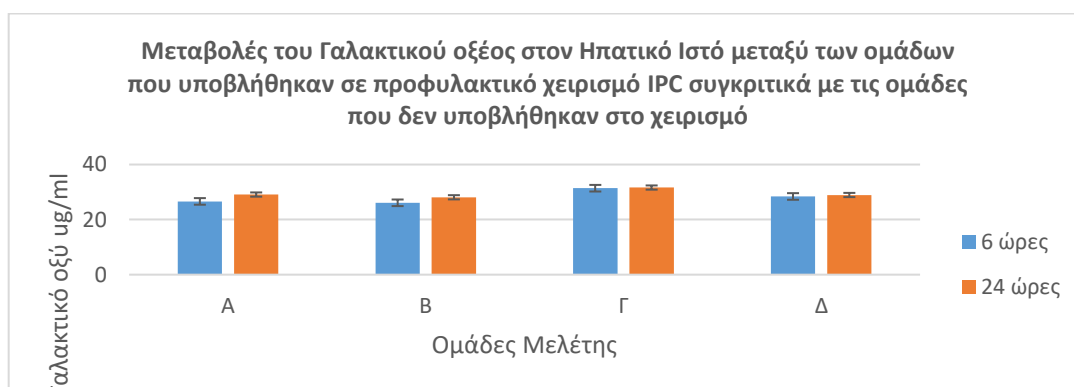
**Σχήμα 54.** Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων Α (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων Β (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC.

Επίσης, στις 24 ώρες η ομάδα Β παρουσίασε στο αίμα στατιστικά ( $p = 0.004$ ) υψηλότερες τιμές για την GSH σε σύγκριση με την ομάδα Α. Η ομάδα Δ συγκρινόμενη με την ομάδα Γ, στο αίμα παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.001$ ) υψηλότερες τιμές GSH στις 6 ώρες και ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) υψηλότερες τιμές στις 24 ώρες. Μεταξύ των ομάδων Β και Δ δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση για τις τιμές της GSH, στον ηπατικό ιστό ή το αίμα.

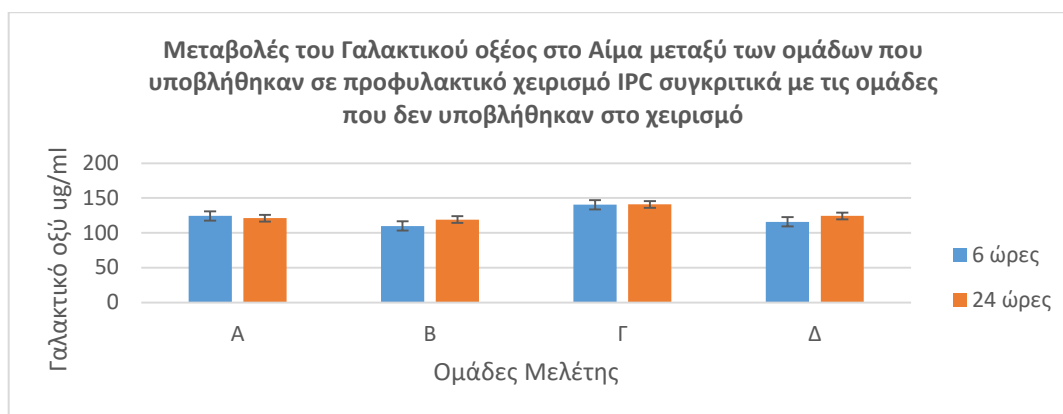


**Σχήμα 55.** Διακύμανση των τιμών της Γλουταθειόνης (GSH) στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών για τις ομάδες B και Δ που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC, σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες A και Γ που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό.

Από τις μεταβολές των τιμών του γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό μεταξύ των 6 και των 24 ωρών, αναδείχθηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής αύξησης του μόνο στην ομάδα B ( $p=0.003$ ). Από την μελέτη των τιμών του γαλακτικού οξέος στο αίμα, μεταξύ των 6 και των 24 ωρών, αναδείχθηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής αύξησης τόσο στην ομάδα B ( $p=0.003$ ) όσο και στην ομάδα Δ ( $p=0.008$ ).



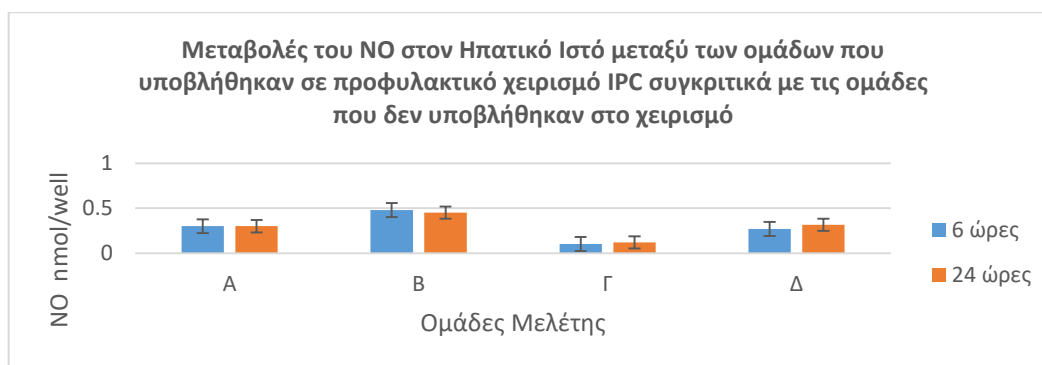
**Σχήμα 56.** Διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Οριακά υψηλότερη διακύμανση των τιμών για την ομάδα Γ με ηπατική στεάτωση.



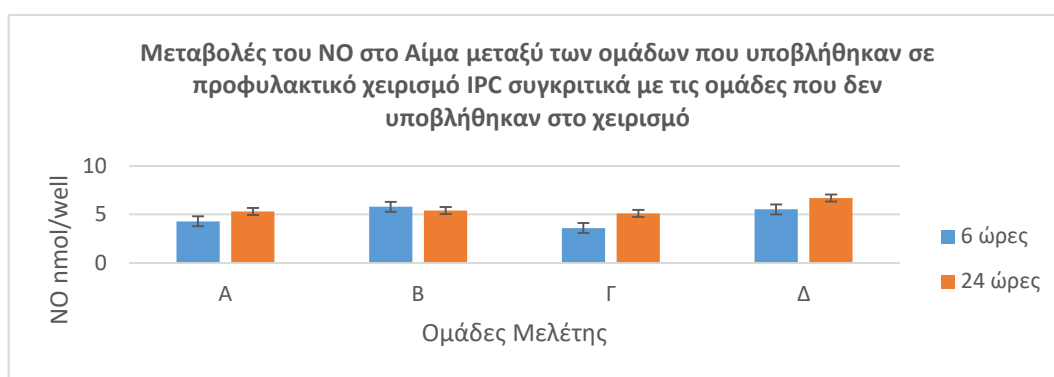
**Σχήμα 57.** Διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος (Lactate) στο αίμα των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Υψηλότερη διακύμανση των τιμών για την ομάδα Γ με ηπατική στεάτωση.

Μεταξύ των ομάδων A και B δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση για τις τιμές του γαλακτικού οξέος, στον ηπατικό ιστό ή στο αίμα. Από την μελέτη του του γαλακτικού οξέος του ηπατικού ιστού και του αίματος, στις 6 ώρες, μεταξύ των ομάδων Γ και Δ, αναδείχθηκε η ύπαρξη ισχυρής στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p < 0.0005$ ), με μειωμένη μέση τιμή στην ομάδα Δ. Από την μελέτη του του γαλακτικού οξέος του ηπατικού ιστού, στις 24 ώρες, μεταξύ των ομάδων Γ και Δ, αναδείχθηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p = 0.001$ ), με μειωμένη τιμή του γαλακτικού οξέος στην ομάδα Δ. Τέλος, οι ομάδες B και Δ δεν παρουσίασαν καμία συσχέτιση στο αίμα για το γαλακτικό οξύ, ενώ στον ηπατικό ιστό, η ομάδα Δ παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.01$ ) υψηλότερες τιμές στις 6 ώρες σε σύγκριση με την ομάδα B.

Από τις μεταβολές των τιμών του NO στον ηπατικό ιστό μεταξύ των 6 και των 24 ωρών, αναδείχθηκε η ύπαρξη οριακά στατιστικά σημαντικής αύξησης του μόνο στην ομάδα Δ ( $p = 0.01$ ). Από την μελέτη των τιμών του NO στο αίμα, μεταξύ των 6 και των 24 ωρών, αναδείχθηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής αύξησης του τόσο στην ομάδα B ( $p = 0.001$ ) όσο και στην ομάδα Δ ( $p = 0.003$ ). Μεταξύ των ομάδων A και B παρατηρήθηκε ισχυρά στατιστικά σημαντική συσχέτιση ( $p < 0.0005$ ), για τις τιμές του NO στον ηπατικό ιστό και στο αίμα, στις οποίες η ομάδα B παρουσίασε σταθερά τις υψηλότερες τιμές, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες.



**Σχήμα 58.** Διακύμανση των τιμών του NO στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών για τις ομάδες B και Δ.



**Σχήμα 59.** Διακύμανση των τιμών του NO στον ηπατικό ιστό των επίμυων των ομάδων A (φυσιολογικοί) και Γ (με ηπατική στεάτωση), που υποβλήθηκαν μόνο σε πρόκληση βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής σε σύγκριση με τους επίμυες με των ομάδων B (φυσιολογικοί) και Δ (με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Σημαντικά υψηλότερη διακύμανση των τιμών για τις ομάδες B και Δ, κυρίως στις 6 ώρες.

Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων για το NO, του ηπατικού ιστού και του αίματος, στις 6 ώρες μεταξύ των ομάδων Γ και Δ, αναδείχθηκε η ύπαρξη ισχυρής στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p < 0.0005$ ), με υψηλότερες τιμές στην ομάδα Δ. Για το NO, του ηπατικού ιστού στις 24 ώρες μεταξύ των ομάδων Γ και Δ, αναδείχθηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p = 0.03$ ), με αυξημένη τιμή στην ομάδα Δ. Ομοίως, για το NO του αίματος, στις 24 ώρες μεταξύ των ομάδων Γ και Δ, αναδείχθηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής συσχέτισης ( $p = 0.01$ ), με αυξημένη τιμή στην ομάδα Δ. Τέλος, οι ομάδες B και Δ δεν παρουσίασαν καμία συσχέτιση στο αίμα για το NO, ενώ στον ηπατικό ιστό, η ομάδα B παρουσίασε οριακά στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.04$ ) ελάχιστα μεγαλύτερες τιμές του NO στις 6 ώρες σε σύγκριση με την ομάδα B.

Στη συνέχεια αναφέρονται τα ιστοπαθολογικά ευρήματα, ειδικά για τις ομάδες που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό ισχαιμικής προετοιμασίας (IPC). Ειδικότερα, στην ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων στους οποίους πραγματοποιήθηκε τριπλός προφυλακτικός χειρισμός IPC, 24 ώρες πριν την πρόκληση IRI και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε ηπατοκυτταρική νέκρωση που προσέγγισε το 35%, ισχαιμική στάση σε ποσοστό 60-65% και έντονη φλεγμονώδης διήθηση (περίπου 4-5 εστίες ανά οπτικό πεδίο). Στις 24 ώρες από το πέρας του χειρισμού πρόκλησης IRI και την διενέργεια της ηπατεκτομής, στο ηπατικό παρέγχυμα η νέκρωση κάλυπτε το 42.5-45% του ηπατικού παρεγχύματος, η ισχαιμία επεκτεινόταν στο 25-30%, ενώ η φλεγμονή παρόλα αυτά παρουσίαζε την ίδια έκταση (περίπου 4-5 εστίες ανά οπτικό πεδίο) και στις 24 ώρες για την ομάδα Β. Στην ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση στους

οποίους πραγματοποιήθηκε τριπλός προφυλακτικός χειρισμός IPC, 24 ώρες πριν την πρόκληση IRI και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, στις 6 ώρες παρατηρήθηκε ηπατοκυτταρική νέκρωση που προσέγγισε το 45-50%, ισχαιμική στάση σε ποσοστό 65-70% και έντονη φλεγμονώδης διήθηση (περίπου 6-7 εστίες ανά οπτικό πεδίο). Στις 24 ώρες από το πέρας πρόκλησης της IRI και την διενέργεια της ηπατεκτομής, στο ηπατικό παρέγχυμα η νέκρωση κάλυπτε το 50-55% του ηπατικού παρεγχύματος, η ισχαιμία επεκτεινόταν στο 35% του μη νεκρωμένου ηπατικού παρεγχύματος, ενώ η φλεγμονή παρέμενε στην ίδια έκταση που καταλάμβανε και στις 6 ώρες (6 εστίες ανά οπτικό πεδίο).

Μελετώντας την παράμετρο της παρεγχυματικής νέκρωσης, στατιστικά σημαντική ( $p=0.002$ ) διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ των ομάδων Β και Δ στις 6 ώρες, με την ομάδα Δ να παρουσιάζει μεγαλύτερο ποσοστό νέκρωσης σε σχέση με την Β, η οποία όμως δεν παρατηρήθηκε στις 24 ώρες. Ως προς την παράμετρο της ισχαιμίας οι δυο ομάδες που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC, η ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων και η ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση, παρουσίασαν ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p<0.0001$ ) μείωση της έκτασης της ισχαιμίας από τις 6 στις 24 ώρες, σε σύγκριση με τις ομάδες Α και Γ. Τέλος, ως προς την μελέτη της φλεγμονής, η ομάδα Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό

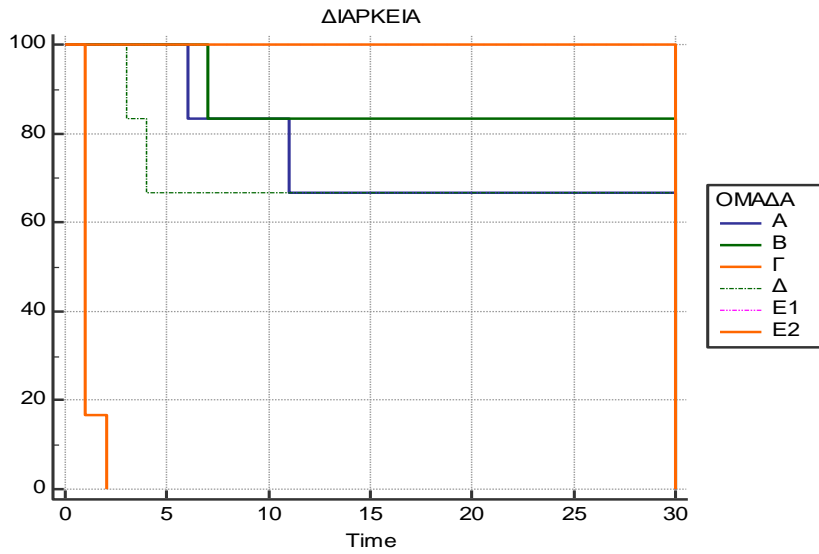


τριπλό χειρισμό IPC) παρουσίασε ισχυρά στατιστικά σημαντική ( $p < 0.0001$ ) μείωση του ποσοστού νέκρωσης από τις 6 στις 24 ώρες, καθώς και ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0001$ ) υψηλότερα ποσοστά φλεγμονής σε σύγκριση με την ομάδα Β (φυσιολογικοί επίμυες που υποβλήθηκαν σε προστατευτικό τριπλό χειρισμό IPC) στις 24 ώρες.

#### 4.5 Επιβίωση

Η επιβίωση μελετήθηκε σε όλες τις ομάδες (ελέγχου και βασικών χειρουργικών χειρισμών) σε φυσιολογικούς επίμυες και σε επίμυες με ηπατική στεάτωση. Η μελέτη της επιβίωσης 30 ημερών πραγματοποιήθηκε σε 6 επίμυες που επελέγησαν τυχαία από κάθε ομάδα και υποβλήθηκαν στους αντίστοιχους χειρισμούς. Οι δυο ομάδες ελέγχου E1 (φυσιολογικοί επίμυες) και E2 (επίμυες με ηπατική στεάτωση), παρουσίασαν την μέγιστη επιβίωση (100% επιβίωση 30 ημερών). Οι φυσιολογικοί επίμυες της ομάδας Α, που υποβλήθηκαν σε IRI και εκτεταμένη ηπατεκτομή, επιβίωσαν σε ποσοστό 67%.

Δυο επίμυες απεβίωσαν την 5<sup>η</sup> και την 6<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα αντίστοιχα. Η ομάδα Γ των επίμυων με ηπατική στεάτωση που επίσης υποβλήθηκαν σε IRI και εκτεταμένη ηπατεκτομή, παρουσίασαν την χειρότερη έκβαση, μιας και κανένας δεν επιβίωσε περισσότερο από 29 ώρες μετά το πέρας των χειρουργικών χειρισμών. Η ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων που υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC, 24 ώρες πριν την πρόκληση IRI και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, παρουσίασαν επιβίωση 83.3%. Σημειώθηκε μόνο ένας θάνατος την 7<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα. Τέλος, η ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που επίσης υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC, 24 ώρες πριν την πρόκληση IRI και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, παρουσίασαν επιβίωση 67%. Οι δυο θάνατοι συνέβησαν την 3<sup>η</sup> και την 4<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα. Οι ομάδες Α, Β και Δ παρουσίασαν οριακά στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.03$ ) μικρότερη επιβίωση από τις ομάδες ελέγχου E1 και E2, που εμφάνισαν την καλύτερη επιβίωση (100%). Μεταξύ τους οι ομάδες Α, Β και Δ δεν παρουσίασαν καμία σημαντική συσχέτιση. Αντίθετα και οι τρεις ομάδες (Α, Β και Δ) παρουσίασαν ισχυρά στατιστικά σημαντικά ( $p < 0.0005$ ) καλύτερη επιβίωση από την ομάδα Γ, που παρουσίασε τη χειρότερη έκβαση.



**Σχήμα 23.** Πιθανότητες 30ήμερης επιβίωσης. Η πιθανότητα 30ήμερης επιβίωσης για τις δυο ομάδες ελέγχου E1 και E2 είναι 100%, ακολουθεί η ομάδα B με πιθανότητα 83.3% και οι ομάδες A και Δ με 67%. Αντίθετα η ομάδα Γ παρουσιάζει την χειρίστη έκβαση και καμία πιθανότητα επιβίωσης μετά τις 29 ώρες.

## 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα βασικά ερευνητικά ερωτήματα που τέθηκαν αφορούσαν την επίδραση στην IL6, στον TNFα, στο NO, στο LA και στη GSH, του τριπλού χειρισμού της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας 24 ώρες πριν την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης για την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής σε επίμυες με ηπατική στεάτωση. Κρίθηκε αναγκαίο, αφενός να μελετηθεί ο χειρισμός πρόκλησης βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης μόνος και μαζί με τον χειρισμό της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας και αφετέρου να μελετηθούν συγκριτικά οι χειρισμοί σε επίμυες με ηπατική στεάτωση και φυσιολογικούς.

### **5.1 Μελέτη της επίδρασης των χειρουργικών χειρισμών σε σχέση με τα αποτελέσματα των μελετώμενων παραμέτρων (IL6, TNFα, NO, GSH και Γαλακτικού οξέος) στον Ηπατικό Ιστό και το Αίμα**

Για την IL6 στην παρούσα μελέτη εντοπίστηκε σημαντική αύξηση, από τις 6 στις 24 ώρες, των τιμών της στο αίμα και τον ηπατικό ιστό των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε χειρισμό IRI και εκτεταμένη ηπατεκτομή. Όμως, παρά την αύξηση από τις 6 στις 24 ώρες, η ομάδα των φυσιολογικών επίμυων που υποβλήθηκε στους ίδιους χειρισμούς παρουσίασε στατιστικά αυξημένη παραγωγή της IL6, στο αίμα και στον ηπατικό ιστό, σε σύγκριση με τους επίμυες με ηπατική στεάτωση. Αυτή η αύξηση της IL6 στις 6 ώρες πιθανόν να ασκεί έγκαιρα την προφυλακτική της δράση στους φυσιολογικούς επίμυες, ενώ τα αυξημένα ποσά από τις 6 στις 24 ώρες στους επίμυες με ηπατική στεάτωση πιθανόν να καταδεικνύουν την συνέχιση της έντονης φλεγμονώδους αντίδρασης και την επέκταση της βλάβης μετά από IRI.

Στις ομάδες των επίμυων (φυσιολογικών και με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό ισχαιμικής ηπατικής προγύμνασης (IPC) 24 ώρες πριν την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης (IRI) και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της παραγωγής IL6 τόσο στο αίμα όσο και

στον ηπατικό ιστό από τις 6 στις 24 ώρες. Ιδιαίτερης σημασίας είναι η παρατήρηση των σημαντικά υψηλότερων τιμών που διακυμάνθηκε η IL6 σε κάθε μέτρηση (6 και 24 ώρες) στον ηπατικό ιστό και στο αίμα των φυσιολογικών επίμυων που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC σε σχέση αυτούς που δεν υποβλήθηκαν πριν την πρόκληση IRI και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής. Αντίστοιχης σημασίας είναι και η σημαντικά υψηλότερη διακύμανση της IL6 σε κάθε μέτρηση (6 και 24 ώρες) στον ηπατικό ιστό και στο αίμα των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC σε σχέση αυτούς που δεν υποβλήθηκαν πριν την πρόκληση IRI και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής. Αποδεικνύεται ότι στο παρόν πείραμα, ο χειρισμός IPC οδηγεί στην αύξηση των επιπέδων της IL6 τόσο στους επίμυες με ηπατική στεάτωση όσο και στους φυσιολογικούς επίμυες, προφυλάσσοντας από τις βλάβες της IRI και την επιβάρυνση της ηπατεκτομής. Χαρακτηριστικά, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις συσχετίσεις μεταξύ των φυσιολογικών και των επίμυων με ηπατική στεάτωση που έχουν υποβληθεί σε προφυλακτικό χειρισμό IPC 24 ώρες πριν την IRI και την εκτεταμένη ηπατεκτομή. Μπορεί λοιπόν να υποστηριχθεί, ότι ο χειρισμός IPC εξουδετερώνει σε μεγάλο βαθμό την αρνητική επίδραση της ηπατικής στεάτωσης στη παραγωγή της IL6.

Η επόμενη παράμετρος που μελετήθηκε αφορούσε τις τιμές του TNFα, στον ηπατικό ιστό και στο αίμα. Αρχικά, εντοπίστηκε ιδιαίτερα σημαντική αύξηση, από τις 6 στις 24 ώρες, των τιμών του TNFα στο αίμα και στον ηπατικό ιστό των επίμυων με ηπατική στεάτωση αλλά και των φυσιολογικών επίμυων που υποβλήθηκαν σε χειρισμό IRI και εκτεταμένη ηπατεκτομή. Παρόλα αυτά η αύξηση του TNFα στο αίμα και τον ηπατικό ιστό ήταν εξόχως σημαντικά μεγαλύτερη στους επίμυες με στεάτωση σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς επίμυες που υποβλήθηκαν στους ίδιους χειρισμούς. Η χαμηλότερη διακύμανση των τιμών του TNFα στους φυσιολογικούς επίμυες μετά από χειρισμό IRI και τη διενέργεια ηπατεκτομής, πιθανόν υποδεικνύει την μικρότερη επίδραση της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης στο φυσιολογικό ηπατικό παρέγχυμα σε σχέση με αυτό που έχει υποστεί λιπώδη διήθηση.

Στις ομάδες των επίμυων (φυσιολογικών και με ηπατική στεάτωση) που

υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό ισχαιμικής ηπατικής προγύμνασης (IPC) 24 ώρες πριν την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης (IRI) και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, παρατηρήθηκε μέτρια αύξηση της παραγωγής του TNFα από τις 6 στις 24 ώρες μόνο στο αίμα και καθόλου στον ηπατικό ιστό. Ιδιαίτερης σημασίας είναι η παρατήρηση των σημαντικά χαμηλότερων τιμών που διακυμάνθηκε ο TNFα σε κάθε μέτρηση (6 και 24 ώρες) στον ηπατικό ιστό και στο αίμα των φυσιολογικών επίμυων που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC σε σχέση αυτούς που δεν υποβλήθηκαν πριν την πρόκληση IRI και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής. Αντίστοιχης σημασίας, είναι και η σημαντικά χαμηλότερη διακύμανση του TNFα σε κάθε μέτρηση (6 και 24 ώρες) στον ηπατικό ιστό και στο αίμα των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC σε σχέση αυτούς που δεν υποβλήθηκαν πριν την πρόκληση IRI και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής. Αποδεικνύεται ότι ο χειρισμός IPC οδηγεί στην μείωση των επιπέδων του TNFα τόσο στους επίμυες με ηπατική στεάτωση όσο και στους φυσιολογικούς επίμυες, προφυλάσσοντας από τις βλάβες της IRI και την επιβάρυνση της ηπατεκτομής. Χαρακτηριστικά, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις συσχετίσεις μεταξύ των φυσιολογικών και των επίμυων με ηπατική στεάτωση που έχουν υποβληθεί σε προφυλακτικό χειρισμό IPC 24 ώρες πριν την IRI και την εκτεταμένη ηπατεκτομή. Μπορεί λοιπόν να υποστηριχθεί, ότι ο χειρισμός IPC εξουδετερώνει σε μεγάλο βαθμό την αυξημένη παραγωγή του TNFα, προφυλάσσοντας το ηπατικό παρέγχυμα και μειώνοντας την έκταση της ηπατοκυτταρικής βλάβης.

Για το NO στην παρούσα μελέτη εντοπίστηκε σημαντική αύξηση, από τις 6 στις 24 ώρες, των τιμών της στο αίμα και τον ηπατικό ιστό των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC πριν την εφαρμογή του χειρισμού πρόκλησης IRI και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής. Αύξηση του NO από τις 6 στις 24 ώρες παρατηρήθηκε και στο αίμα των επίμυων (φυσιολογικών και με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν μόνο σε χειρισμούς πρόκλησης IRI και εκτεταμένης ηπατεκτομής. Όμως, ιδιαίτερη σημασίας είναι η σημαντικά αυξημένη παραγωγή του NO στον ηπατικό ιστό των φυσιολογικών επίμυων που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό

χειρισμό IPC σε σύγκριση τόσο με τους φυσιολογικούς επίμυες που δεν υποβλήθηκαν σε χειρισμό IPC πριν τον χειρισμό πρόκλησης IRI και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, όσο και με τους επίμυες με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Παρά όμως, τη χαμηλότερη διακύμανση των τιμών του NO στην ομάδα των επίμυων με ηπατική στεάτωση που είχαν υποβληθεί σε προφυλακτικό χειρισμό IPC, αυτές ήταν σημαντικά μεγαλύτερες σε σύγκριση με τους επίμυες με ηπατική στεάτωση που δεν είχαν υποβληθεί σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Η παραπάνω παρατήρηση αφενός επιβεβαιώνει την θετική επίδραση του χειρισμού της ισχαιμικής προγύμνασης στο φυσιολογικό ήπαρ, μας επιτρέπει όμως να πιθανολογήσουμε με σχετική ασφάλεια και την θετική επίδραση στην αύξηση του NO στους επίμυες με ηπατική στεάτωση.

Από τη μελέτη της GSH στην παρούσα μελέτη εντοπίστηκε σημαντική αύξηση, από τις 6 στις 24 ώρες, των τιμών της στο αίμα και τον ηπατικό ιστό των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC 24 ώρες πριν τον χειρισμό πρόκλησης IRI και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής. Όμως, αξίζει να σημειωθεί ότι δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική αύξηση της GSH από τις 6 στις 24 ώρες, τόσο στους φυσιολογικούς επίμυες όσο και στους επίμυες με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν μόνο σε χειρισμούς πρόκλησης IRI και εκτεταμένης ηπατεκτομής. Η παραπάνω παρατήρηση σε συνδυασμό με την σημαντική αύξηση της GSH στις 6 ώρες στον ηπατικό ιστό των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC σε σχέση με τους επίμυες με ηπατική στεάτωση που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC, πιθανόν να συνεισφέρει στην αντιοξειδωτική άμυνα του ηπατικού παρεγχύματος και την ταχύτερη αποκατάσταση της ιστικής οξέωσης. Λαμβάνοντας δε υπόψη, ότι οι επίμυες που υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC (επίμυες με στεάτωση και οι φυσιολογικοί) δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στην διακύμανση των τιμών της GSH σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης (6 και 24 ώρες) στο αίμα ή στον ηπατικό ιστό. Η παραπάνω παρατήρηση πιθανόν επιβεβαιώνει ότι ο προφυλακτικός χειρισμός IPC αποκαθιστά σε σημαντικό βαθμό την αντιοξειδωτική ισορροπία του παρεγχύματος με ηπατική στεάτωση,

μειώνοντας την βλαπτική επίδραση και διάρκεια της βλάβης από ισχαιμία – επαναιμάτωση σε έδαφος εκτεταμένης ηπατεκτομής.

Τελευταία παράμετρος που μελετήθηκε στον ηπατικό ιστό και το αίμα ήταν το Γαλακτικό οξύ (LA). Αρχικά, εντοπίστηκε ιδιαίτερα σημαντική αύξηση, από τις 6 στις 24 ώρες, των τιμών του Γαλακτικού οξέος στο αίμα και στον ηπατικό ιστό των επίμυων με ηπατική στεάτωση αλλά και των φυσιολογικών επίμυων που υποβλήθηκαν σε χειρισμούς πρόκλησης IRI και εκτεταμένης ηπατεκτομής. Επίσης, η αύξηση του Γαλακτικού οξέος (από τις 6 ώρες στις 24 ώρες) στο αίμα και τον ηπατικό ιστό ήταν σημαντικά πολύ μεγαλύτερη στους επίμυες με στεάτωση σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς επίμυες που υποβλήθηκαν σε χειρισμούς πρόκλησης IRI και εκτεταμένης ηπατεκτομής. Η χαμηλότερη διακύμανση των τιμών του Γαλακτικού οξέος στους φυσιολογικούς επίμυες μετά από χειρισμό πρόκλησης IRI και τη διενέργεια ηπατεκτομής, πιθανόν υποδεικνύει την μικρότερη επίδραση της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης στο φυσιολογικό ηπατικό παρέγχυμα σε σχέση με αυτό που έχει υποστεί λιπώδη διήθηση. Στις ομάδες των επίμυων (φυσιολογικών και με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό ισχαιμικής ηπατικής προγύμνασης (IPC) 24 ώρες πριν την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης (IRI) και την διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, παρατηρήθηκε μικρή αύξηση της παραγωγής του Γαλακτικού οξέος από τις 6 στις 24 ώρες στο αίμα και στον ηπατικό ιστό. Επίσης, οι επίμυες (είτε φυσιολογικοί είτε με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC πριν την εφαρμογή του χειρισμού πρόκλησης IRI και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα Γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό και στο αίμα, από τους αντίστοιχους επίμυες που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC πριν τον χειρισμό πρόκλησης IRI και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής. Είναι όμως ιδιαίτερης σημασίας, η παρατήρηση των σημαντικά χαμηλότερων τιμών που διακυμάνθηκε το Γαλακτικό οξύ στις 6 ώρες, στον ηπατικό ιστό των φυσιολογικών επίμυων, που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC, σε σχέση με τους επίμυες με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν στον ανάλογο χειρισμό, διαφορά η οποία δεν παρατηρήθηκε στις 24 ώρες. Η παραπάνω

παρατήρηση μπορεί να υποδεικνύει την ευεργετική επίδραση του χειρισμού IPC στην μείωση της ιστικής παραγωγής του Γαλακτικού οξέος μετά από τις 6 ώρες στο ηπατικό παρέγχυμα με στεάτωση, οδηγώντας στην αποκατάσταση του αερόβιου μεταβολισμού σε ικανοποιητική έκταση.

## **5.2 Συσχέτιση των μελετώμενων παραμέτρων με την επιβίωση και τις ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις**

Προκειμένου μελετηθεί συνολικά η επίδραση του τριπλού χειρισμού της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας (IPC) συνδυάστηκαν τα αποτελέσματα που αφορούν την επιβίωση των βασικών πειραματικών ομάδων (Α, Β, Γ και Δ) με τις ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις (*Νέκρωση, Ισχαιμία και Φλεγμονή*) και τις μελετώμενες παραμέτρους στον Ηπατικό Ιστό (*IL6, TNF $\alpha$ , NO, Γαλακτικό Οξύ, GSH*) και στο Αίμα (*IL6, TNF $\alpha$ , NO, Γαλακτικό Οξύ, GSH, AST, ALT, ALP,  $\gamma$ GT, TG, CHOL, TLIP*). Την μεγαλύτερη ηπατοκυτταρική βλάβη με συνοδό εκτεταμένη νέκρωση, ισχαιμία και βαριά φλεγμονή, που επιβεβαιώθηκε από τις σημαντικά πολύ αυξημένες τιμές των *AST, ALT, ALP* και  *$\gamma$ GT* στο αίμα παρουσίασε η ομάδα Γ με τους επίμους με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε 30λεπτη ισχαιμία και επαναιμάτωση για την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και εν συνεχεία διενεργήθηκε εκτεταμένη ηπατεκτομή.<sup>323</sup> Συγχρόνως η συγκεκριμένη ομάδα, ήταν σχεδόν η μόνη που παρουσίασε σημαντικές μεταβολές στις τιμές των τριγλυκεριδίων, πιθανόν λόγω της αυξημένης απελευθέρωσής τους στο αίμα μετά από την νεκρωτική βλάβη και λύση που παρουσίασαν τα ηπατοκύτταρα, ήδη από τις πρώτες 6 ώρες από την επαναιμάτωση. Τα παραπάνω αποδεικνύουν και την σοβαρή επίδραση που είχε η IRI στο ήπαρ με σοβαρή λιπώδη διήθηση, αφού η ομάδα Γ είχε την χειρότερη έκβαση, με κανένα μέλος της να μην επιβιώνει περισσότερο μετά από 29 ώρες από την επαναιμάτωση. Η αντίστοιχη ομάδα Α με φυσιολογικούς επίμους παρουσίασε επιβίωση 30 ημερών μετά την πρόκληση τη IRI που προσέγγισε το 67%, με σημαντικά μικρότερες διακυμάνσεις των δεικτών ηπατοκυτταρικής βλάβης (*AST, ALT, ALP και  $\gamma$ GT*) που παρουσίασαν ήπια κάμψη από τις 6 στις 24 ώρες και σημαντικά μικρότερης έκτασης νέκρωση, ισχαιμία και φλεγμονή του ηπατικού παρεγχύματος, με σταδιακό περιορισμό των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων, επίσης από τις 6 στις 24 ώρες. Βασική



διάκριση των δυο ομάδων, στις λοιπές μελετώμενες παραμέτρους, ήταν οι αυξημένες τιμές του *NO* και της *IL6* στους φυσιολογικούς επίμυες, ενώ αντίθετα οι επίμυες με ηπατική στεάτωση παρουσίασαν αυξημένες τιμές των *TNFα* και του Γαλακτικού οξέος.

Οι δυο ομάδες Β και Δ που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό τριπλό χειρισμό IPC, 24 ώρες πριν τον χειρισμό πρόκλησης βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και τη διενέργεια εκτεταμένης ηπατεκτομής, παρουσίασαν τις καλύτερες επιβιώσεις. Η ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων με ποσοστό επιβίωσης 83.3% και η ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση, με μη σημαντική διαφορά από την Β, παρουσίασε ποσοστό επιβίωσης περίπου 67%. Επίσης, και οι δυο ομάδες, Β (φυσιολογικοί επίμυες) και Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) παρουσίασαν περιορισμό της έκτασης της ηπατικής νέκρωσης, της ισχαιμίας και της φλεγμονής από τις 6 στις 24 ώρες, μετά το πέρας των χειρισμών. Παρουσίασαν δε, σημαντικά λιγότερες βλάβες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες Α (φυσιολογικοί επίμυες) και Γ (επίμυες με ηπατική στεάτωση) που υποβλήθηκαν μόνο σε χειρισμούς πρόκλησης βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και διενέργειας εκτεταμένης ηπατεκτομής. Και οι δύο ομάδες Β και Γ παρουσίασαν τις χαμηλότερες τιμές για τους δείκτες ηπατοκυτταρική βλάβης (AST, ALT, ALP και γGT), με μη σημαντικές διακυμάνσεις μεταξύ τους. Μοναδική ίσως εξαίρεση αποτελεί η αυξημένη τιμή της ALT στην ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση, που παρέμενε αυξημένη σημαντικά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή της ALT στην ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων.<sup>303</sup> Τέλος, βασικό χαρακτηριστικό και των δύο ομάδων (Β και Δ) που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό ισχαιμικής προσαρμοστικότητας ήταν οι παρόμοιες διακυμάνσεις των τιμών των ειδικών μεταβλητών (*IL6*, *TNFα*, *NO*, *LA*, *GSH*) τόσο στον ηπατικό ιστό όσο και στο αίμα. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε παρόμοια μεταβολή με σημαντική αύξηση των τιμών του *NO* και της *IL6* και οριακή αύξηση των τιμών της *GSH*, τόσο στον ηπατικό ιστό όσο και στο αίμα, πάντα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ομάδες Α και Β που δεν υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC. Μια μικρή διαφορά που χρήζει περαιτέρω μελέτης παρατηρήθηκε στις τιμές του *NO* μεταξύ των ομάδων Β και Δ. Στον ηπατικό ιστό η ομάδα των φυσιολογικών επίμυων (ομάδα

B) παρουσίασε σημαντικά υψηλότερες τιμές του NO σε σύγκριση με την ομάδα των επίμυων με ηπατική στεάτωση (ομάδα Δ), ενώ συγχρόνως οι φυσιολογικοί επίμυες που είχαν υποβληθεί σε προφυλακτικό χειρισμό IPC παρουσίασαν, όχι σημαντική, αλλά υπαρκτή μείωση των τιμών του NO από τις 6 στις 24 ώρες, τόσο στον ηπατικό ιστό όσο και στο αίμα. Αντίθετα, οι επίμυες με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC (ομάδα Δ) παρουσίασε σταθερά αύξηση του NO από τις 6 στις 24 ώρες τόσο στον ηπατικό ιστό όσο και στο αίμα. Από τις παραμέτρους της χοληστερόλης και των ολικών λιπιδίων δεν προέκυψαν αξιοσημείωτα ευρήματα.

Κλείνοντας την παρουσίαση της παρούσας χειρουργικής πειραματικής μελέτης κρίνεται σκόπιμο να αναφερθούν ιδιαίτερα τα σημεία που αφορούν τα ερευνητικά ερωτήματα που τέθηκαν κατά την έναρξη της. Επιβεβαιώθηκε, η αρνητική επίδραση της παρατεταμένης ισχαιμίας στο ήπαρ με σοβαρού βαθμού λιπώδη διήθηση (στεάτωση). Επίσης, η διάρκεια της ισχαιμίας είναι ανάλογη του βαθμού της βλάβης και επέρχεται συντομότερα σε σύγκριση με την διάρκεια της ισχαιμικής βλάβης στο φυσιολογικό ήπαρ. Η έκταση της βλάβης είναι μεγαλύτερη, οφείλεται ως επί το πλείστον σε ηπατοκυτταρική νέκρωση και συνοδεύεται από εκτεταμένη ισχαιμία και φλεγμονώδη διήθηση.

### **5.3 Συσχέτιση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα**

Η ηπατική στεάτωση αποτελεί συνήθη παθολογική διαταραχή στις ανεπτυγμένες κοινωνίες, με επιπολασμό που προσεγγίζει το 20-30% του γενικού πληθυσμού, ενώ αποτελεί παράγοντα κινδύνου και ανεξάρτητο αρνητικό προγνωστικό δείκτη για τις μείζονες επεμβάσεις του ήπατος.<sup>146,271,304-314</sup> Ειδικότερα όμως, στην εκτεταμένη ηπατική στεάτωση, η βλάβη μετά από ισχαιμία- επαναιμάτωση (Ischemia Reperfusion Injury –IRI) αποτελεί σοβαρό παράγοντα κινδύνου και πιθανής κακής έκβασης μετά από μείζονες επέμβασης στο ήπαρ.<sup>204,271,314-333</sup> Το πρόβλημα που ανακύπτει είναι η ελαττωμένη ανοχή του ήπατος με στεάτωση σε σχέση με το φυσιολογικό στην παρατεταμένη ισχαιμία.<sup>330</sup> Η ηπατική ισχαιμία 30 λεπτών που ακολουθείται από επαναιμάτωση σε ήπαρ που έχει υποστεί στεάτωση, εμφανίζει μικρή επιβίωση,

που στην παρούσα μελέτη δεν υπερβαίνει τις 29 ώρες και είναι παρόμοια με τα αποτελέσματα στην υπάρχουσα βιβλιογραφία.<sup>256,303</sup> Επιπρόσθετα φαίνεται ότι ο χειρισμός IPC, επιδρά προφυλακτικά σε παρατεταμένη ηπατική ισχαιμία.<sup>303</sup>

Οι υπάρχουσες μελέτες αποδεικνύουν (Sydor, 2013, Veteläinen,2007) ότι η ηπατική στεάτωση δεν επηρεάζει την αναγεννητική ικανότητα του ήπατος μετά από εκτεταμένη (>70%) ηπατεκτομή. Στην πραγματικότητα ο χειρισμός της παρατεταμένης ηπατικής ισχαιμίας ευθύνεται (Hsiao et al, 2010) μειωμένη την αναγεννητική ικανότητα αλλά και την βιοχημική δυσλειτουργία του ήπατος με στεάτωση.<sup>153,154,311,334</sup> Το αποτέλεσμα είναι, ότι παρά την επαναιμάτωση, η βλάβη καταλήγει να μην είναι αναστρέψιμη, αυξάνοντας την νοσηρότητα και τη θνητότητα λόγω οξείας ηπατικής ανεπάρκειας.<sup>153,154,272,332</sup> Η ηπατική ισχαιμία των 45-60 λεπτών οδηγεί τάχιστα στο θάνατο των επίμυων με ηπατική στεάτωση, προκαλώντας σοβαρούς περιορισμούς στην διάρκεια της μελέτης.<sup>308</sup> Η ηπατική ισχαιμία 30 λεπτών που ακολουθείται από επαναιμάτωση σε ήπαρ που έχει υποστεί στεάτωση, εμφανίζει μικρή επιβίωση, που στην παρούσα μελέτη δεν υπερβαίνει τις 29 ώρες και είναι παρόμοια με τα αποτελέσματα στην υπάρχουσα βιβλιογραφία, επιτρέπει όμως την μελέτη των διαφόρων παραμέτρων στο πρώτο 24ωρο.<sup>154,244,304,308</sup> Επιπρόσθετα φαίνεται ότι ο χειρισμός IPC, επιδρά προφυλακτικά σε παρατεταμένη ηπατική ισχαιμία.<sup>244</sup> Η ανάπτυξη πειραματικών μοντέλων για την μελέτη της επίδρασης της ηπατικής στεάτωσης στην πρόκληση σοβαρής ηπατικής βλάβης και ηπατικής ανεπάρκειας σε περιπτώσεις IRI, βρίσκεται σε εξέλιξη, αναδεικνύοντας ως κύριο υπεύθυνο τον μηχανισμό της ηπατοκυτταρικής νέκρωσης.<sup>132,144,146,267,305</sup>

Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες φαρμακευτικές παρεμβάσεις προκειμένου να μειωθεί η βλαπτική επίδραση του IRI στο ήπαρ με στεάτωση, με ποικίλα αποτελέσματα.<sup>132,154,244,306</sup> Επίσης, παρά τις προσπάθειες ανάπτυξης χειρουργικών τεχνικών και θεραπευτικών στρατηγικών για την προστασία από την IRI μετά παρατεταμένη ισχαιμία, μόνο ο χειρισμός της ηπατικής ισχαιμικής προγύμνασης (IPC) έχει αποδώσει στις περιπτώσεις ηπατικής στεάτωσης.<sup>278,290-293,307</sup> Ο συγκεκριμένος χειρισμός περιλαμβάνει μικρές

περιόδους ισχαιμίας (5-10 λεπτών) που ακολουθούνται από επαναιμάτωση, πριν πραγματοποιηθεί χειρισμός παρατεταμένης ηπατικής ισχαιμίας.<sup>132,186,190,248,279</sup> Πολλοί μηχανισμοί προτείνονται προκειμένου να εξηγηθεί ο προστατευτικός μηχανισμός που αναπτύσσεται κατά τον IPC.<sup>271</sup>

Η παρούσα χειρουργική μελέτη είχε ως σκοπό την διερεύνηση της επίδρασης της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας (IPC) στα αποτελέσματα του χειρισμού παρατεταμένης ισχαιμίας του ήπατος με στεάτωση και της επακόλουθης IRI, όταν αυτή (IPC) εφαρμόζεται 24 ώρες πριν την πρόκληση της IRI. Από τα ιστολογικά ευρήματα επιβεβαιώθηκε η εκτεταμένη ηπατική στεάτωση μετά από διατροφή ελεύθερη χολίνης για 12-14 εβδομάδες.<sup>155,315,316</sup> Η λιπώδης διήθηση του ήπατος επιτεύχθηκε σε ποσοστό  $69,76 \pm 8,71\%$ , γεγονός που επιβεβαιώνει την πρόκληση σοβαρής ηπατικής βλάβης.<sup>153,277,297,298</sup> Σκόπιμα επιλέχθηκε χρονική διάρκεια ισχαιμίας 30 λεπτών, προκειμένου να επιβιώσουν επίμυες και να ληφθούν δείγματα ηπατικού ιστού και αίματος για αξιόπιστες συγκρίσεις. Η μέγιστη επιβίωση των επίμυων με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε 30λεπτη ηπατική ισχαιμία, επαναιμάτωση και εκτεταμένη ηπατεκτομή ήταν 29 ώρες μετά την επαναιμάτωση. Αντίθετα, οι επίμυες που υποβλήθηκαν σε τρεις χειρισμούς IPC 24ώρες πριν από την 30λεπτη ηπατική ισχαιμία, επαναιμάτωση και εκτεταμένη ηπατεκτομή, επέδειξαν καλύτερη έκβαση, αφού σχεδόν το 67% επιβίωσε μετά την επαναιμάτωση περισσότερο από 30 ημέρες. Στους φυσιολογικούς επίμυες τα αποτελέσματα ήταν σαφώς καλύτερα.

Η εφαρμογή του χειρισμού της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας, έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνεται σημαντικά την αντοχή στην παρατεταμένη ισχαιμία και επαναιμάτωση, τόσο στο φυσιολογικό ήπαρ όσο και σε αυτό με στεάτωση.<sup>146,308,309</sup> Η διάρκεια του χειρισμού από μελέτες (Jiang,2013) περιορίζεται σε λιγότερο από 15 λεπτά, με το βέλτιστο χρόνο ισχαιμίας υπολογίζεται σε 5-10 λεπτά και διάρκεια της επαναιμάτωσης περισσότερο από 10 λεπτά.<sup>154,305</sup> Σε αυτό το μικρό χρονικό διάστημα ηπατικής ισχαιμίας, δεν προκαλούνται μη αναστρέψιμες ηπατοκυτταρικές και ιστικές βλάβες. Η επιλογή στην παρούσα μελέτη χρονικού διαστήματος 10 λεπτών ισχαιμίας και 20 λεπτών επαναιμάτωσης αποτελεί τον βέλτιστο προτεινόμενο συνδυασμό από την βιβλιογραφία.<sup>132,154,305</sup> Με αυτό το χρονικό συνδυασμό ισχαιμίας και επαναιμάτωσης κατά την ισχαιμική προετοιμασία, το λοιπό ηπατικό παρέγχυμα

δεν ενεργοποιείται για την πιθανή αποκατάσταση των ηπατικών βλαβών, παρά μόνο για την αποκατάσταση της οξέωσης, αν αυτή παραμείνει για μακρύτερο χρονικό διάστημα. Αντίθετα, μετά από 24ώρες και την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, πραγματοποιούνταν αφαίρεση όλου του φυσιολογικού παρεγχύματος, μη επιτρέποντας κατ' αυτόν τον τρόπο να επιδράσει στο ισχαιμικό ηπατικό παρέγχυμα που είχε επαναιματωθεί και πριν 24 ώρες είχε υποστεί ισχαιμική μηχανική προετοιμασία με τριπλό χειρισμό IPC.<sup>132</sup> Οι μετρούμενες επομένως παράμετροι σε καμία περίπτωση δεν βρίσκονταν σε εξάρτηση από το φυσιολογικό ήπαρ, μιας και στην πρώτη φάση, ο χειρισμός IPC, προ-ενεργοποιούσε τα ηπατοκύτταρα και τα προετοίμαζε να ανταποκριθούν στον χειρισμό της παρατεταμένης 30λεπτης ηπατικής ισχαιμίας, της δεύτερης φάσης τους πειράματος 24 ώρες μετά.<sup>132</sup> Σε αυτή την ενεργοποίηση των ηπατοκυττάρων δεν έχει αποδειχθεί ότι επιδρά το φυσιολογικό παρέγχυμα, μιας και το χρονικό διάστημα του χειρισμού IPC δεν προκαλεί μη αναστρέψιμες κυτταρικές και ιστικές βλάβες. Αντίθετα, η παρατεταμένη ισχαιμία και η επαναιμάτωση, είναι δεδομένο ότι προκαλούν βλάβες, όμως στην παρούσα μελέτη, μετά το πέρας της ισχαιμίας και την επαναιμάτωση, διενεργούνταν ηπατεκτομή του φυσιολογικού ηπατικού παρεγχύματος, ώστε να μην του επιτραπεί καμία επίδραση στο μελετώμενο ηπατικό τμήμα μετά τον χειρισμό IRI.<sup>132,310-355</sup>

Η αύξηση της αντοχής στην ισχαιμία, η βελτίωση της μικροκυκλοφορίας, η αύξηση του ATP καθώς και η μείωση της παραγωγής του TNFα, αποτελούν μερικούς από τους παράγοντες που επιδρά θετικά ο χειρισμός της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας, βελτιώνοντας την κυτταρική αντοχή στην παρατεταμένη ισχαιμία-επαναιμάτωση του ήπατος, μειώνοντας την ηπατοκυτταρική νέκρωση.<sup>146,150,303,308-310</sup> Η εκτεταμένη και επιτευνόμενη (από τις 6 στις 24 ώρες) νέκρωση του ηπατικού παρεγχύματος στην ομάδα Γ, σε ποσοστό που κυμαίνεται 75-80%, επιβεβαιώνεται και από άλλες μελέτες (Selzner, 2000) και αποδίδεται στον μαζικό ηπατοκυτταρικό θάνατο, που οδηγεί στην απελευθέρωση και ενεργοποίηση κυτταροπλασματικών ενζύμων που προκαλούν περαιτέρω ανεξέλεγκτη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση.<sup>154,189</sup> Στην παρούσα μελέτη την ηπατοκυτταρική βλάβη επιβεβαιώνει η σημαντική αύξηση των AST, ALT, ALP και γGT στις ομάδες A

και Γ.<sup>303</sup> Παρόμοιες παρατηρήσεις της ηπατοκυτταρικής βλάβης (Yadav, 1999, Selzner, 2000, Selzner, 2003) και της αύξησης των τρανσαμινασών αλλά και της γGT μεταξύ 8-24 ωρών επιβεβαιώνει και η υπάρχουσα βιβλιογραφία.<sup>189,190,259,272</sup>

Για την IL6 προέκυψε σαφής αύξηση μετά τον χειρισμό της 30λεπτης ισχαιμίας και επαναιμάτωσης. Όμως, ο χειρισμός IPC βοήθησε στην μεγαλύτερη αύξηση της παραγωγής της λειτουργώντας θετικά στην επιβίωση των επίμυων των ομάδων Β (φυσιολογικοί επίμυες) και Δ (επίμυες με ηπατική στεάτωση).<sup>311</sup> Από πειραματικά μοντέλα (Sun, 2003) έχει αποδειχθεί ο θετικός ρόλος της εξωγενούς χορήγησης IL6 μετά από παρατεταμένη ισχαιμία-επαναιμάτωση σε επίμυες με ηπατική στεάτωση.<sup>323-329</sup> Η IL6 περιορίζει την ενδοθηλιακή και ηπατοκυτταρική βλάβη, καθώς και την ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer, μετά από παρατεταμένη ισχαιμία-επαναιμάτωση. Σειρά μελετών (Arai, 1999, Chen, 1999, Hong, 2002, Sun, 2003) έχει αποδείξει ότι ο προφυλακτικός ρόλος της IL6 στο ήπαρ με ηπατική στεάτωση πραγματοποιείται μέσω της προστατευτικής δράσης του μηχανισμού STAT3 και του περιορισμού του ρόλου των TGF-β και TNF-α.<sup>320,321,326-329</sup> Η συμβολή του χειρισμού IPC είναι σημαντική στην αύξηση των επιπέδων της IL6, δρώντας προστατευτικά σε περιπτώσεις IRI στο ήπαρ.<sup>317-319,329</sup>

Ο παράγοντας TNFα παρουσίασε εξ' αρχής σταθερή αύξηση από τις 6 ώρες στις 24 ώρες στους επίμυες με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε παρατεταμένη ηπατική ισχαιμία και επαναιμάτωση. Η συγκεκριμένη αύξηση των τιμών του TNFα ακολουθούνταν από αύξηση των τρανσαμινασών (ALT/AST), της ALP και της γGT, γεγονός που αποδεικνύει την σοβαρή ηπατοκυτταρική βλάβη (IRI) και την επακόλουθη ηπατική ανεπάρκεια.<sup>260,303</sup> Από την βιβλιογραφία επιβεβαιώνεται ο επιβαρυντικός ρόλος του TNFα στην ελάττωση των επιπέδων του ATP, καθώς και στην ενεργοποίηση της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης.<sup>150,260,331</sup> Από υπάρχουσες μελέτες (Teoh, 2003) οι μικρές συγκεντρώσεις του TNFα, ίσως λειτουργούν προστατευτικά στην επαγόμενη ηπατική βλάβη από την παρατεταμένη ισχαιμία και επαναιμάτωση, αντίθετα από άλλες μελέτες (Selzner, 2003, Teoh, 2004, Jin,

2010) προκύπτει ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις προκαλούν αυξημένη ηπατοκυτταρική νέκρωση.<sup>150,154,260,330-332</sup> Επίσης, ο χειρισμός IPC οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή του TNFα, γεγονός που πιθανόν επιβεβαιώνει την θετική επίδραση του χειρισμού και στους επίμυες με ηπατική στεάτωση (ομάδα Β) αλλά και στους φυσιολογικούς (ομάδα Β).<sup>260,323,324,332</sup>

Ένας από τους πιθανούς παθογενετικούς μηχανισμούς που αναπτύσσεται στο ήπαρ με στεάτωση, οφείλεται στην παθολογική συσσώρευση μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων, που οδηγεί σε σοβαρή διαταραχή της λειτουργίας της μιτοχονδριακής αλύσου, μέσω διαταραχής της β-οξειδωσης και της νεογλυκογένεσης, με τελικό αποτέλεσμα τη ελαττωμένη παραγωγή του ATP και την αυξημένη απελευθέρωση γαλακτικού οξέος.<sup>148,149</sup> Οι υπάρχουσες μελέτες (Peralta, 2000, Peralta, 2001) καταδεικνύουν τον ρόλο του ATP στην έκταση της ηπατοκυτταρικής νέκρωσης μετά την επαναιμάτωση του ήπατος.<sup>149,316,317</sup> Ο αποπτωτικός μηχανισμός στην παρατεταμένη ισχαιμία του φυσιολογικού ήπατος, δεν διαδραματίζει μάλλον σημαντικό ρόλο στο ήπαρ με στεάτωση.<sup>154,271,277</sup>

Το γαλακτικό οξύ στις διάφορες μελέτες (Vincent,1983, Mizock,1992) επιβεβαιώνει την παρουσία της ανοξίας-υποξίας, την ενεργοποίηση του αναερόβιου μηχανισμού παραγωγής ενέργειας και την συνεχιζόμενη βλάβη στο κυτταρικό επίπεδο.<sup>204-206,333</sup> Όπως έχει αποδειχθεί (Fahey, 1997, Theodoraki,2006) η αύξηση της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος στον ηπατικό ιστό αποτελεί ένδειξη σοβαρής ηπατικής δυσλειτουργίας, που σταδιακά επηρεάζει συστηματικό ολόκληρο τον οργανισμό.<sup>204-208,335,336</sup> Ο χειρισμός της IRI προκαλεί ιδιαίτερη επιβάρυνση στην λειτουργία του κυττάρου, εκτρέποντας την παραγωγή ενέργειας από την αερόβια στην αναερόβια φάση της.<sup>81,337,338</sup> Αντίθετα ο χειρισμός της IPC φαίνεται ότι δρα θετικά μειώνοντας τα επίπεδα του γαλακτικού οξέος.<sup>339-342</sup> Η πιθανή δράση του χειρισμού IPC μάλλον εμποδίζει την εκδήλωση της ιστικής ισχαιμίας και της κυτταρικής νέκρωσης, με την παραγωγή IL-6 που εμποδίζει την παραγωγή και απελευθέρωση του TNFα, εμποδίζοντας την φλεγμονώδη αντίδραση.<sup>194,277,292-294,339-342</sup> Η θετική επίδραση του χειρισμού IPC επιβεβαιώνεται στην παρούσα μελέτη και από τα μειωμένα επίπεδα γαλακτικού οξέος τόσο στον ηπατικό ιστό

όσο και στο αίμα των επίμυων με ηπατική στεάτωση της ομάδας Δ σε σχέση με την ομάδα Γ , αλλά και των φυσιολογικών επίμυων της ομάδας Β σε σχέση με τους επίμυες της ομάδας Α.

Η γλουταθειόνη (GSH) στην ανηγμένη της μορφή (που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη), αποτελεί σημαντικό και ισχυρό αντιοξειδωτικό παράγοντα, με παρουσία σε υψηλές συγκεντρώσεις στα ηπατοκύτταρα, προστατεύοντάς τα από την επίδραση τοξικών οξειδωτικών ενδογενών ριζών (ROS) και εξωγενών βλαπτικών μορίων που αδρανοποιούνται στο ήπαρ. Η αύξηση των επιπέδων της GSH και η διάχυσή τους στο ηπατικό παρέγχυμα μετά από πρόκληση IRI, οδηγεί σε μείωση της δράσης των παραγομένων ROS από τα κύτταρα Kupffer και τα ουδετερόφιλα που έχουν διηθήσει το ισχαιμικό ηπατικό παρέγχυμα, ελαττώνει δραστικά την συσσώρευση και τη διήθηση των λευκοκυττάρων (μέσω της ελάττωσης έκφρασης της P-σελεκτίνης) , ελαχιστοποιεί την ένταση του οξειδωτικού stress κατά την επαναιμάτωση και σταθεροποιεί την ηπατική κολποτριχοειδική μεμβράνη.<sup>106,303,308</sup> Οι υπάρχουσες μελέτες έχουν αποδείξει βελτίωση διπλασιασμό του ποσοστού της 7ήμερης επιβίωσης ( από 38% σε 75%) και σημαντική μείωση της ηπατοκυτταρικής βλάβης με συνοδά μειωμένα επίπεδα των τρανσαμινασών (ALT και AST) και της γGT.<sup>106,303,308,343</sup> Η GSH (στην ανηγμένη της μορφή) έχει χρησιμοποιηθεί ως αντιοξειδωτικός δείκτης για την αξιολόγηση της επίδρασης του χειρισμού IPC πριν την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης. Στην παρούσα μελέτη η γλουταθειόνη παρουσίασε σημαντική μείωση στον ηπατικό ιστό των επίμυων με στεάτωση (ομάδα Γ) που υποβλήθηκαν σε χειρισμό βλάβης από ισχαιμία-επαναιμάτωση. Αντίθετα, τόσο οι φυσιολογικοί επίμυες (ομάδες Α και Β), όσο και οι επίμυες με ηπατική στεάτωση που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό χειρισμό IPC διατήρησαν με μικρές διακυμάνσεις σχεδόν τα ίδια επίπεδα GSH μεταξύ τους. Τα επίπεδα όμως της GSH στο αίμα παρουσίασαν σημαντική αύξηση στους επίμυες που υποβλήθηκαν σε τριπλό χειρισμό IPC (φυσιολογικούς και με ηπατική στεάτωση) σε σύγκριση με αυτούς που δεν υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC. Επίσης παρουσίασαν και σημαντική αύξηση στο αίμα από τις 6 στις 24 ώρες και οι δύο ομάδες Β και Δ. η αύξηση αυτή μετά τις 6 ώρες οφείλεται στην σταδιακή διάχυση της GSH, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία.<sup>106,303,308,343</sup>



Από τις υπάρχουσες μελέτες προτείνεται ότι ο προφυλακτικός χειρισμός IPC προφυλάσσει τα ενδοκυττάρια επίπεδα της GSH και μειώνει την ταχεία κατανάλωσή τους κατά την ηπατική ισχαιμία, καθιστώντας το ηπατοκύτταρο περισσότερο ανθεκτικό. Στο ήπαρ με σοβαρή λιπώδη διήθηση (στεάτωση) η ισχαιμία προκαλεί ταχεία μείωση των επιπέδων της GSH, ενώ όταν έχει προηγηθεί προφυλακτικός χειρισμός IPC η ταχύτητα της μείωσης της GSH επιβραδύνεται σημαντικά. Επίσης έχει καταδειχθεί ότι διάρκεια χειρισμού IPC 5-10 λεπτά, αποδίδει καλύτερα στη διατήρηση των επιπέδων της GSH και μάλιστα αποτελεσματικότερα και από την εξωγενή χορήγηση του εστέρα της γλουταθειόνης, ειδικά αν η ηπατική ισχαιμία περιορίζεται χρονικά σε λιγότερο από 60 λεπτά. <sup>106,303,308,343</sup>

Η ενδογενής παραγωγή του NO έχει αποδειχθεί ότι παρέχει σημαντικού βαθμού προφύλαξη από την επίδραση του μηχανισμού της IRI.<sup>244,307,325</sup> Ειδικά τα βιβλιογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν την αυξημένη παραγωγή του NO μετά από χειρισμό IPC.<sup>206,244,307</sup> Το NO επιδρά με πολλαπλούς μηχανισμούς εμποδίζοντας την αρνητική επίδραση του οξειδωτικού stress, των φλεγμονωδών κυτοκινών, μειώνει την ένταση του αποπτωτικού μηχανισμού, σταθεροποιεί την κυτταρική λειτουργία εξουδετερώνοντας τις παραγόμενες τοξικές ρίζες.<sup>205-207,325</sup> Στην παρούσα μελέτη παρατηρείται σημαντική αύξηση των τιμών του NO στις ομάδες Β και Δ, δηλαδή μετά από χειρισμό IPC, τόσο στις 6 ώρες όσο και στις 24 ώρες από την επαναιμάτωση μετά από την 30λεπτη ηπατική ισχαιμία. Η αύξηση είναι στατιστικά σημαντική τόσο στον ηπατικό ιστό όσο και στο αίμα στην ομάδα Δ σε σχέση με την ομάδα Γ. Όπως προαναφέρθηκε, επίσης σημαντική είναι και η αυξημένη διακύμανση των τιμών του NO στο αίμα και τον ηπατικό ιστό της ομάδα Β σε σχέση με την ομάδα Α. Από τις υπάρχουσες μελέτες (Siriusawakul,2010) η μέγιστη θετική επίδραση πραγματοποιείται στις πρώτες 6 ώρες, τόσο στους φυσιολογικούς επίμυες όσο και στους επίμυες με ηπατική στεάτωση.<sup>325,333</sup> Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε και στατιστικά σημαντική αύξηση του NO από τις 6 ώρες στις 24 ώρες στην ομάδα Δ.

Στην ομάδα Β των φυσιολογικών επίμυων που υποβλήθηκαν σε τριπλό προφυλακτικό χειρισμό IPC όμως αναδεικνύεται η εξής διαφορά σε σύγκριση

με την ομάδα Δ των επίμυων με ηπατική στεάτωση, στις τιμές του NO παρατηρείται μάλλον μείωση μετά την αρχική προφυλακτική αύξησή του στο πρώτο δωρο στους φυσιολογικούς επίμυες. Αντίθετα, οι μεταβολές του NO κατά την παρατεταμένη ισχαιμία στον ηπατικό ιστό χωρίς χειρισμό IPC (ομάδες Α και Γ) παρέμειναν αμελητέες, γεγονός που επιβεβαιώνει αφενός την σημασία του για την μείωση της έκτασης της ηπατικής βλάβης, αφετέρου για την πιθανή ευεργετική επίδραση του χειρισμού IPC τόσο στο ήπαρ με στεάτωση όσο και στο φυσιολογικό.<sup>81,302,339-341,344-346</sup>

Τα δεδομένα από την υπάρχουσα βιβλιογραφία, αλλά και οι νεότερες τεχνικές περιοδικής ισχαιμίας του ήπατος στις μείζονες επεμβάσεις του, καταδεικνύουν την περιορισμένη ανάγκη χρήσης χειρισμών ισχαιμικής προσαρμογής, για το φυσιολογικό ήπαρ.<sup>132,348-355</sup> Για το βραχύ χρονικό διάστημα των 15-60 λεπτών πριν την διενέργεια χειρισμών περιοδικής ισχαιμίας (διάρκειας 15-30 λεπτών με παρεμβολή διαστήματος επαναιμάτωσης 5 λεπτών) δεν προκύπτει ιδιαίτερο όφελος από την διενέργεια χειρισμού IPC στο φυσιολογικό ήπαρ.<sup>132,348</sup> Φαίνεται δε, ότι η μικρής διάρκειας ισχαιμίες (15 λεπτών) ακολουθούμενες από επαναιμάτωση 5 λεπτών, μειώνουν σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης βλάβης ισχαιμίας – επαναιμάτωσης, με συγχρόνως μικρή απώλεια αίματος.<sup>132,348</sup> Ίσως, ο χειρισμός IPC να μειώνει την διάρκεια νοσηλείας και να διευκολύνει την ταχύτερη ανάνηψη της ηπατικής λειτουργίας. Δεν έχει δοκιμαστεί στην πράξη η διενέργεια χειρισμού IPC 18-24 ώρες πριν την εφαρμογή των περιοδικών ισχαιμιών, προκειμένου να καταδειχθεί αν πράγματι δεν υπάρχει όφελος. Σίγουρα ο χειρισμός IPC είναι ευεργετικός σε περιπτώσεις εφαρμογής παρατεταμένης ηπατικής ισχαιμίας. Αντίθετα, για το ήπαρ με στεάτωση, φαίνεται από τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα, ότι ο χειρισμός ισχαιμικής προσαρμογής, ακόμα και μικρό χρονικό διάστημα πριν την εφαρμογή της περιοδικής ισχαιμίας, βελτιώνει την έκβαση και μειώνει την συχνότητα των επιπλοκών.<sup>132,348-355</sup>

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι ο χειρισμός IPC 24 ώρες πριν την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης, αποτελεί μάλλον έναν αξιόπιστο και αποτελεσματικό χειρισμό, που δρα προστατευτικά στην παρατεταμένη ηπατική ισχαιμία στο ήπαρ με στεάτωση και στο φυσιολογικό ήπαρ.<sup>132</sup> Η εφαρμογή για μικρά διαστήματα επαναλαμβανόμενα διαστήματα πριν την παρατεταμένη

ηπατική ισχαιμία και επαναιμάτωση προστατεύει ικανοποιητικά από την εκτεταμένη ηπατική βλάβη.<sup>50,106,116,120,123,131,155,194,303,339-355</sup> Ειδικά δε η εφαρμογή του τριπλού χειρισμού IPC 24 ώρες πριν την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης επί μείζονος χειρουργικής επέμβασης (ηπατεκτομής, μεταμόσχευσης) εμφάνισε στην παρούσα χειρουργική μελέτη θετικά αποτελέσματα.

#### **5.4 Απάντηση των ερευνητικών ερωτημάτων**

Ο τριπλός χειρισμός της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας (προγύμνασης) που εφαρμόστηκε 24 ώρες πριν την παρατεταμένη ηπατική ισχαιμία, τόσο στους επίμυες με ηπατική στεάτωση όσο και στους φυσιολογικούς επίμυες, επιδρά θετικά και προστατευτικά στην βλάβη ισχαιμίας – επαναιμάτωσης σε ήπαρ που υπέστη εκτεταμένη ηπατεκτομή. Ειδικότερα, οδηγεί σε σημαντική αύξηση των επιπέδων των IL6 και NO, καθώς και σε οριακή αύξηση της αντιοξειδωτικής GSH στον ηπατικό ιστό και το αίμα. Επίσης, συμβάλλει στην σημαντική μείωση του TNFα και του γαλακτικού οξέος τόσο στον ηπατικό ιστό όσο και στο αίμα. Όλα τα παραπάνω για την θετική και προφυλακτική επίδραση του τριπλού χειρισμού της ισχαιμικής προσαρμοστικότητας επιβεβαιώνονται από τις χαμηλότερες διακυμάνσεις των τιμών των δεικτών της ηπατοκυτταρικής βλάβης (AST, ALT, ALP και γGT), τα μικρότερα ποσοστά νέκρωσης, ισχαιμίας και φλεγμονής του ηπατικού παρεγχύματος και τα καλύτερα ποσοστά επιβίωσης των επίμυων (με ηπατική στεάτωση και φυσιολογικών) που υποβλήθηκαν στον τριπλό χειρισμό IPC 24 ώρες πριν την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης σε εκτεταμένη ηπατεκτομή σε σύγκριση με τα αντίθετα αποτελέσματα που προέκυψαν στους επίμυες που δεν υποβλήθηκαν στον προφυλακτικό χειρισμό.

#### **5.5 Περιορισμοί της παρούσας μελέτης**

Βασικό περιορισμό της παρούσας μελέτης αποτελεί το γεγονός της διενέργειας του προφυλακτικού τριπλού χειρισμού IPC 24 ώρες πριν την διενέργεια της παρατεταμένης ισχαιμίας για την διενέργεια ηπατεκτομής. Η ουσιαστική πρωτοτυπία της μεθόδου, αποτελεί συγχρόνως και περιορισμό για τι απαιτεί την διενέργεια δυο χειρουργικών επεμβάσεων με χρονική διαφορά 24 ωρών. Την πρώτη για τη διενέργεια του τριπλού προφυλακτικού χειρισμού της

ισχαιμικής προσαρμογής και τη δεύτερη για την πραγματοποίηση της ηπατεκτομής ή της μείζονος επέμβασης στο ήπαρ. Πιθανόν η ελάχιστα επεμβατικές μέθοδοι (αγγειογραφία, λαπαροσκοπική προσπέλαση) στο μέλλον να συμβάλλουν στην κλινική εφαρμογή της μεθόδου. Επίσης, ενώ διερευνήθηκε το χρονικό όριο των 24 ωρών πριν την πρόκληση βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, είναι αναγκαίο να ελεγχθούν και μικρότερα ή μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα (από τις 24 ώρες) για πιθανά καλύτερα αποτελέσματα. Είναι αναγκαία η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων σε μεγαλύτερα ζωικά πρότυπα προκειμένου να εξαχθούν ασφαλέστερα συμπεράσματα.

## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ηπατική στεάτωση στους επίμυες αποτελεί αρνητικό προγνωστικό παράγοντα με αυξημένη θνητότητα μετά από IRI και εκτεταμένη ηπατεκτομή. Η προφυλακτική επίδραση των χειρισμών IPC είναι εξαιρετικά πολύπλοκη και πολυπαραγοντική. Από την μελέτη των αποτελεσμάτων προκύπτει η θετική επίδραση του χειρισμού IPC στο ήπαρ με στεάτωση 24 ώρες πριν από χειρισμό 30 λεπτών ισχαιμίας, επαναιμάτωσης και εκτεταμένης ηπατεκτομής. Η προφυλακτική επίδραση στο χειρισμού IPC συνίσταται στην μείωση της απόπτωσης και της κυτταρικής νέκρωσης, προστατεύοντας από την ανάπτυξη βλάβης μετά από ισχαιμία και επαναιμάτωση, στο εναπομείναν τμήμα του ήπατος με στεάτωση μετά από εκτεταμένη ηπατεκτομή.

## Βιβλιογραφικές Αναφορές

1. McLaughlin CW, Johnson S, Wright JD et al. Human Biology and Health. Englewood Cliffs, New Jersey, USA, 1993, ISBN 0-13-981176-1. OCLC 32308337.
2. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL, Abbas AK. Robbins and Cotran pathologic basis of disease(7th ed) Elsevier Saunders, St.Louis, 2005.ISBN0-7216-0187-1.
3. Snell RS. Κλινική Ανατομική, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας 1992.
4. Sadler T. Langman's Ιατρική Εμβρυολογία, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας 1999.
5. Junqueira LC, Carneiro J. Βασική Ιστολογία II, Ιατρικές Εκδόσεις ΠΧ Πασχαλίδης 2004.
6. Graudal N, Leth P, Mårbjerg L, and Galløe AM. Characteristics of cirrhosis undiagnosed during life: a comparative analysis of 73 undiagnosed cases and 149 diagnosed cases of cirrhosis, detected in 4929 consecutive autopsies. J. Intern. Med. 1991;230:165–171.
7. Abdel-Misih SRZ, Bloomston M. Liver Anatomy. Surg Clin North Am 2010;90:643–653.
8. Gouysse G, Couvelard A, Frachon S, et al. Relationship between vascular development and vascular differentiation during liver organogenesis in humans. J Hepatol 2002; 37:730-740.
9. Lalor PF, Lai WK, Curbishley SM, et al. Human hepatic sinusoidal endothelial cells can be distinguished by expression of phenotypic markers related to their specialised functions in vivo. World J Gastroenterol. 2006; 34:5429-39.
10. DeLeve L, Wang X, Hu L, et al. Rat liver sinusoidal endothelial cell phenotype is maintained by paracrine and autocrine regulation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2004; 287:757-763.
11. Knolle PA, Limmer A. Control of immune responses by scavenger liver endothelial cells. Swiss Med Wkly. 2003; 133:37-38.
12. Limmer A, Ohl J, Kurts C, et al. Efficient presentation of exogenous antigen by liver endothelial cells to CD8+ T cells results in antigen-specific T-cell tolerance. Nat Med. 2000; 12:1348-54.
13. Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis. World J Gastroenterol. 2014; 23:7312-24.
14. Dey A, Allen J, Hankey-Giblin PA. Ontogeny and polarization of macrophages in inflammation: blood monocytes versus tissue macrophages. Front Immunol. 2015; 5:683.

15. Naito M, Hasegawa G, Takahashi K. Development, differentiation, and maturation of Kupffer cells. *Microsc Res Tech.* 1997; 39(4):350-64.
16. Nakatani K, Kaneda K, Seki S, Nakajima Y. Pit cells as liver-associated natural killer cells: morphology and function. *Med Electron Microsc.* 2004; 37:29-36.
17. Paschos KA, Majeed AW, Bird NC. Natural history of hepatic metastases from colorectal cancer--pathobiological pathways with clinical significance. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(14): 3719-37.
18. Rubin E, Farber JL. *Pathology.* J.P. Lippincott Co., United States: Philadelphia, PA; 1988.
19. Monga SP. *Molecular Pathology of Liver Diseases,* Springer , LLC 2011.
20. Jarnagin WR, Gonen M, Fong Y, et al. Improvement in perioperative outcome after hepatic resection: analysis of 1,803 consecutive cases over the past decade. *Ann Surg.* 2002;236: 397-406.
21. Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML. Strategies for Safer Liver Surgery and Partial Liver Transplantation *N Engl J Med* 2007; 356:1545-1559.
22. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol.* 1986;250:749-53.
23. Lemasters JJ, Stemkowski CJ, Ji S, et al. Cell surface changes and enzyme release during hypoxia and reoxygenation in the isolated, perfused rat liver. *J Cell Biol* 1983;97:778–786.
24. Gores GJ, Herman B, Lemasters JJ. Plasma membrane bleb formation and rupture: a common feature of hepatocellular injury. *Hepatology* 1990; 11: 690-698.
25. Lemasters JJ, Ji S, Thurman RG. Centrilobular injury following hypoxia in isolated, perfused rat liver. *Science* 1981;213:661–663.
26. Lemasters J, Theruvath T. P, Zhong Z, Nieminen A. L. Mitochondrial calcium and the permeability transition in cell death". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenerg.* 2009; 1787 (11): 1395–1401.
27. Frederiks WM, Myagkaya GL, Bosch KS et al. The value of enzyme leakage for the prediction of necrosis in liver ischemia. *Histochem.* 1983;78(4):459-72.
28. Frederiks WM, James J, Bosch KS, et al. A model for provoking ischemic necrosis in rat liver parenchyma and its quantitative analysis. *Exp Pathol.* 1982;22(4):245-52.
29. Sankary HN, Chong A, Foster P, et al. J. Inactivation of Kupffer cells after prolonged donor fasting improves viability of transplanted hepatic allografts. *Hepatology.* 1995;22:1236-42.

30. Carden DL, and Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J.Pathol.*2000; 190:255–266.
31. Stadler M, Nuyens V, Seidel L, et al. Effect of nutritional status on oxidative stress in an ex vivo perfused rat liver. *Anesthesiology.* 2005; 103(5):978-86.
32. Sumimoto R, Southard JH, Belzer FO. Livers from fasted rats acquire resistance to warm and cold ischemia injury. *Transplantation.* 1993;55(4):728-32.
33. Mitchell JR, Verweij M, Brand K, et al. Short-term dietary restriction and fasting precondition against ischemia reperfusion injury in mice. *Aging Cell.* 2010;9(1):40-53.
34. Cywes R, Greig PD, Sanabria JR, et al. Effect of intraportal glucose infusion on hepatic glycogen content and degradation, and outcome of liver transplantation. *Ann Surg* 1992;216:235–246.
35. Stadler M, Nuyens V, Seidel L, ey al. Effect of nutritional status on oxidative stress in an ex vivo perfused rat liver. *Anesthesiology* 2005;103:978–986.
36. Savvanis S, Nastos C, Tasoulis MK, et al. Sildenafil attenuates hepatocellular injury after liver ischemia reperfusion in rats: a preliminary study. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:161942.
37. Nishimura Y, Takei Y, Kawano S, et al. Expression of ICAM-1 is involved in the mechanism of liver injury after orthotopic liver transplantation. In: Wisse E, Knook DL, Wake K, editors. *Cells of the hepatic sinusoid*, 1994;5:231–233.
38. Carmen Peralta<sup>1</sup>, Mónica B. Jiménez-Castrol et al. Hepatic ischemia and reperfusion injury: Effects on the liver sinusoidal milieu. *J of Hepatol*, 2013;59:1094–1106.
39. Degott C, Rueff B, Kreis H et al. Peliosis hepatis in recipients of renal transplants. *Gut.* 1978;19(8):748.
40. Wiezorek JS, Brown DH, Kupperman DE, Brass CA. Rapid conversion to high xanthine oxidase activity in viable Kupffer cells during hypoxia. *J Clin Invest.* 1994; 94(6):2224-30.
41. Arab HA, Sasani F, Rafiee MH, et al. Histological and biochemical alterations in early-stage lobar ischemia-reperfusion in rat liver. *World J Gastroenterol.* 2009;15(16):1951-7.
42. Lemasters JJ, Bond JM, Chacon E, et al. The pH paradox in ischemia-reperfusion injury to cardiac myocytes. *EXS.* 1996;76:99-114.
43. Irwin M. Arias et al. *The Liver: Biology and Pathobiology*, 5th Edition Willey. 2009.

44. Qiao X, Xu J, Yang QJ, et al. Transient acidosis during early reperfusion attenuates myocardium ischemia reperfusion injury via PI3k-Akt-eNOS signaling pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:126083.
45. Nieminen AL, Saylor AK, Herman B, Lemasters JJ. ATP depletion rather than mitochondrial depolarization mediates hepatocyte killing after metabolic inhibition. *Am J Physiol*. 1994;267:67-74.
46. Danobeitia JS, Djamali A, Fernandez LA. The role of complement in the pathogenesis of renal ischemia-reperfusion injury and fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2014;7:16.
47. Nastos C, Kalimeris K, Papoutsidakis N, et al N. Global consequences of liver Ischemia/reperfusion injury. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:906965.
48. Kato A, Okaya T, Lentsch AB. Endogenous IL-13 protects hepatocytes and vascular endothelial cells during ischemia/reperfusion injury. *Hepatology*. 2003;37(2):304-12.
49. Teoh N, Field J, Farrell G. Interleukin-6 is a key mediator of the hepatoprotective and pro-proliferative effects of ischaemic preconditioning in mice. *J Hepatol* 2006; 45: 20-27.
50. Peralta C, Closa D, Hotter G, et al. Liver ischemic preconditioning is mediated by the inhibitory action of nitric oxide on endothelin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1996;229(1):264–270.
51. Guan LY, Fu PY, Li PD, et al. Mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effects of nitric oxide. *World J Gastrointest Surg*. 2014;6(7):122-8.
52. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation *Nature Reviews Immunology* 2013;13:159-175.
53. Datta G, Fuller BJ, Davidson BR. Molecular mechanisms of liver ischemia reperfusion injury: insights from transgenic knockout models. *World J Gastroenterol*. 2013;19(11):1683-98.
54. Abu-Amara M, Yang SY, Tapuria N, et al. Liver ischemia/reperfusion injury: processes in inflammatory networks--a review. *Liver Transpl*. 2010;16(9):1016-32.
55. Luo G, Zhu G, Yuan D, Yao W, Chi X, Hei Z. Propofol alleviates acute lung injury following orthotopic autologous liver transplantation in rats via inhibition of the NADPH oxidase pathway. *Mol Med Rep*. 2015;11(3):2348-54.
56. Ozaki M, Deshpande SS, Angkeow P, et al. Inhibition of the Rac1 GTPase protects against nonlethal ischemia/reperfusion-induced necrosis and apoptosis in vivo. *FASEB J* 2000;14:418–429.



57. Jaeschke H, Ho YS, Fisher MA, Lawson JA, and Farhood A. Glutathione peroxidase deficient mice are more susceptible to neutrophil-mediated hepatic parenchymal cell injury during endotoxemia: importance of an intracellular oxidant stress. *Hepatology*, 1999;29:443–450.
58. Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284:15-26.
59. Hanazaki K, Kuroda T, Kajikawa S, Amano J. Prostaglandin E1 reduces thromboxane A2 in hepatic ischemia-reperfusion. *Hepatogastroenterology*. 2000;47(33):807-11.
60. Senoo H. Structure and function of hepatic stellate cells. *Med Electron Microsc.* 2004 Mar;37(1):3-15.
61. Reifart J, Rentsch M, Mende K, et al. Modulating CD4+ T Cell Migration in the Postischemic Liver: Hepatic Stellate Cells as New Therapeutic Target? *Transplantation*. 2015; 99(1):41-7.
62. Gasque P. Complement: a unique innate immune sensor for danger signals. *Mol Immunol* 2004, 41(11):1089–1098.
63. Kamo N, Ke B, Ghaffari AA, et al. ASC/caspase-1/IL-1 $\beta$  signaling triggers inflammatory responses by promoting HMGB induction in liver ischemia/reperfusion injury. *Hepatology*. 2013;58(1):351-62.
64. Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, et al. Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol* 1999; 36:941–8.
65. Panés J, Perry M, Granger DN. Leukocyte-endothelial cell adhesion: avenues for therapeutic intervention *Br J Pharmacol*. 1999; 126(3): 537–550.
66. Bilzer M, Jaeschke H, Vollmar AM, et al. Prevention of Kupffer cell-induced injury in rat liver by atrial natriuretic peptide (ANP): A novel endogenous defense mechanism against oxidant injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1999; 276:1137–1144.
67. Brown KE, Brunt EM, Heinecke JW. Immunohistochemical detection of myeloperoxidase and its oxidation products in Kupffer cells of human liver. *Am J Pathol*. 2001;159(6):2081-8.
68. Furie B, Furie BC. Mechanisms of Thrombus Formation *N Engl J Med* 2008; 359:938-949.
69. Farmer DG, Kaldas F, Anselmo D, et al. Tezosentan, a novel endothelin receptor antagonist, markedly reduces rat hepatic ischemia and reperfusion injury in three different models. *Liver Transpl*. 2008;14(12):1737-44.

70. Gertler JP, Ocasio VH. Endothelin production by hypoxic human endothelium. *J Vasc Surg* 1993, 18:178–182.
71. Dong Xu, Noriaki Emoto, Adel Giaid et al. ECE-1: A membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1 *Cell*. 1994;78(3):473-85.
72. Uprichard AC, Chi L, Lucchesi BR. Functional consequence of big endothelin conversion: demonstration with isolated neutrophils but not in a postinfarction model. *Pharmacology* 1993; 47(5):277-85.
73. Pannen BH, Al-Adili F, Bauer M, et al. Role of endothelins and nitric oxide in hepatic reperfusion injury in the rat. *Hepatology*. 1998; 27(3):755-64.
74. McCuskey RS. Morphological mechanisms for regulating blood flow through hepatic sinusoids. *Liver* 2000; 20: 3–7.
75. Ming Z, Han C, and Lutt WW. Nitric oxide mediates hepatic arterial vascular escape from norepinephrine-induced constriction. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1999; 277: 1200–1206.
76. Miyake T, Yokoyama Y, Kokuryo T, et al. Endothelial nitric oxide synthase plays a main role in producing nitric oxide in the superacute phase of hepatic ischemia prior to the upregulation of inducible nitric oxide synthase. *J Surg Res*. 2013; 183(2):742-51.
77. Hines IN, Harada H, Flores S, et al. Endothelial nitric oxide synthase protects the post ischemic liver: potential interactions with superoxide. *Bio Pharmacoth*. 2005;59:183–189.
78. Jaffrey SR, Erdjument-Bromage H, Ferris CD, et al. Protein S-nitrosylation: a physiological signal for neuronal nitric oxide. *Nat Cell Biol*. 2001;3(2):193-7.
79. Maejima Y, Adachi S, Morikawa K, et al. Nitric oxide inhibits myocardial apoptosis by preventing caspase-3 activity via S-nitrosylation. *J Mol Cell Cardiol*. 2005;38:163–174.
80. Serracino-Inglott F, Virlos IT, Habib NA, Williamson RC, Mathie RT. Differential nitric oxide synthase expression during hepatic ischemia-reperfusion. *Am J Surg*. 2003;185(6):589-95.
81. Köken T, Inal M. The effect of nitric oxide on ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Clin Chim Acta*. 1999; 288(1-2):55-62.
82. Lacza Z, Kozlov AV, Pankotai E, et al. Mitochondria produce reactive nitrogen species via an arginine-independent pathway. *Free Radic Res* 2006; 40: 369-378.

83. Blanchard-Fillion B, Prou D, Polydoro M, et al. Metabolism of 3-nitrotyrosine induces apoptotic death in dopaminergic cells. *J Neurosci*. 2006;26(23):6124-30.
84. Beltrán B, Orsi A, Clementi E, Moncada S. Oxidative stress and S-nitrosylation of proteins in cells *Br J Pharmacol*. 2000; 129(5): 953–960.
85. Alchera E, Dal Ponte C, Imarisio C, Albano E, Carini R. Molecular mechanisms of liver preconditioning. *World J Gastroenterol*. 2010;16(48):6058-67.
86. Lee VG, Johnson ML, Baust J, et al. The roles of iNOS in liver ischemia-reperfusion injury. *Shock*. 2001;16:355–360.
87. Kondo T, Okamoto S, Todoroki T, et al. Application of a novel method for subsequent evaluation of sinusoids and postsinusoidal venules after ischemia-reperfusion injury of rat liver. *Eur Surg Res*. 1998;30(4):252-8.
88. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Review. *Toxicol Pathol*. 2007;35(4):495-516.
89. Kerr J. F., Wyllie A. H. and Currie A. R. (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 26: 239–257.
90. Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *Bmj* 2001;322:1536–8.
91. Opferman JT, Korsmeyer SJ. Apoptosis in the development and maintenance of the immune system. *Nat Immunol* 2003;4:410–5.
92. Kurosaka K, Takahashi M, Watanabe N, Kobayashi Y. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. *J Immunol* 2003;171:4672–9.
93. Martinvalet D, Zhu P, Lieberman J. Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity* 2005;22:355–70.
94. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001; 104:487–501.
95. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 1998;281:1305–8.
96. Hsu H, Xiong J, Goeddel DV. The TNF receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and NFkappa B activation. *Cell* 1995;81:495–504.
97. Hotchkiss RS, Strasser A, McDunn JE, et al. Cell death. *N. Engl. J. Med*. 2009; 361:1570–1583.

98. Yang M, Antoine DJ, Weemhoff JL, et al. Biomarkers distinguish apoptotic and necrotic cell death during hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *Liver Transpl.* 2014; 20:1372–1382.
99. Linkermann A, Hackl MJ, Kunzendorf U, et al. Necroptosis in immunity and ischemia-reperfusion injury. *Am. J. Transplant.* 2013;13:2797–2804.
100. Mannon RB. Necroptosis in solid organ transplantation: a missing link to immune activation? *Am. J. Transplant.* 2013;13:2785–2786.
101. Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol* 2009;7:99–109.
102. Codogno P, Meijer AJ. Autophagy in the liver. *Journal of Hepatol.* 2013;59:389–391.
103. Wang H, Sun L, Su L, et al. Mixed lineage kinase domain-like protein MLKL causes necrotic membrane disruption upon phosphorylation by RIP3. *Mol. Cell,* 2014;54:133–146.
104. Wang J-H, Ahn I-S, Fischer TD, et al. Autophagy suppresses age-dependent ischemia and reperfusion injury in livers of mice. *Gastroenterol.* 2011; 141:2188–2199
105. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74(5):1124.
106. Jaeschke H, Woolbright BL. Current strategies to minimize hepatic ischemia–reperfusion injury by targeting reactive oxygen species. *Transpl. Rev.* 2012;26(2):103-114.
107. Kong SE, Blennerhassett LR, Heel KA, et al. Ischaemia reperfusion injury to the intestine. *Aust NZ J Surg,* 1998; 68:554–61.
108. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury. *Anesthes.* 2001;94:1133–1138.
109. Speechly-Dick ME, Mocanu MM, Yellon DM. Protein kinase C. Its role in ischemic preconditioning in the rat. *Circ Res,* 1994; 75:586-90.
110. Leeser M.A., Stoddard M., Ahmed M., Broadbent J., Bolli R. (1997). Preconditioning of human myocardium with adenosine during coronary angioplasty. *Circulation,* 1997; 95:2500-7.
111. Ishida T, Yarimizu K, Gute DC, et al. Mechanisms of ischemic preconditioning. *Shock,* 1997; 8:86–94.
112. Kitakaze M, Hori M, Morioka T, et al. Infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning blunted by inhibition of 5'-nucleotidase activity and attenuation of adenosine release. *Circulation,* 1994; 89:1237–1246.

113. Korthuis RJ, Gute DC, Cepinskas G, et al. Cellular mechanisms of acute versus delayed preconditioning. *Pathophysiology*, 1998; 5: 35–48.
114. Murillo D, Kamga C, Mo L, Shiva S. Nitrite as a mediator of ischemic preconditioning and cytoprotection. *Nitric Oxide*. 2011;25(2):70-80.
115. Björnsson B, Winbladh A, Bojmar L, et al. Remote or conventional ischemic preconditioning—local liver metabolism in rats studied with microdialysis. *J Surg Res*. 2012;176(1):55-62.
116. Wang Y, Shen J, Xiong X, et al. Remote ischemic preconditioning protects against liver ischemia-reperfusion injury via heme oxygenase-1-induced autophagy. *PLoS One*. 2014 Jun 10;9(6):e98834.
117. Tsalkidou EG, Tsaroucha AK, Chatzaki E, et al. The Effects of Apigenin on the Expression of Fas/FasL Apoptotic Pathway in Warm Liver Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Biomed Res Int*. 2014; 2014:157216.
118. Bejaoui M, Pantazi E, Calvo M, et al. Polyethylene Glycol Preconditioning: An Effective Strategy to Prevent Liver Ischemia Reperfusion Injury. *Oxid. Med. and Cell. Long.* 2016, Article ID 9096549, 10 pages, 2016. doi:10.1155/2016/9096549
119. Peralta C, Jimenez-Castro MB, Gracia-Sancho J. Hepatic ischemia and reperfusion injury: Effects on the liver sinusoidal milieu. *J. of Hepatol*. 2013;59(5):1094-1106
120. Bedirli A, Kerem M, Pasaoglu H, et al. Effects of ischemic preconditioning on regenerative capacity of hepatocyte in the ischemically damaged rat livers. *J Surg Res* 2005; 125: 42-48.
121. Fausther M, Lecka J, Kukulski F, et al. Cloning, purification, and identification of the liver canalicular ecto-ATPase as NTPDase8. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007;292(3):G785-95.
122. Nakayama H, Yamamoto Y, Kume M, et al. Pharmacologic stimulation of adenosine A2 receptor supplants ischemic preconditioning in providing ischemic tolerance in rat livers. *Surgery* 1999; 126: 945-954.
123. Hart ML, Much C, Gorzolla IC. Et al. Extracellular adenosine production by ecto-5'-nucleotidase protects during murine hepatic ischemic preconditioning. *Gastroenterology* 2008; 135: 1739-1750.
124. Carini R, De Cesaris MG, Splendore R, et al. Signal pathway involved in the development of hypoxic preconditioning in rat hepatocytes. *Hepatology* 2001; 33: 131-139.

125. Zhang R, Zhang L, Manaenko A, et al. Helium preconditioning protects mouse liver against ischemia and reperfusion injury through the PI3K/Akt pathway. *J Hepatol*. 2014;61(5):1048-55.
126. Mandili G, Alchera E, Merlin S. et al. Mouse hepatocytes and LSEC proteome reveal novel mechanisms of ischemia/reperfusion damage and protection by A2aR stimulation. *J Hepatol*. 2014; S0168-8278(14)00736-3.
127. Carini R, Alchera E, De Cesaris MG, et al. Purinergic P2Y2 receptors promote hepatocyte resistance to hypoxia. *J Hepatol* 2006; 45: 236-245.
128. Wei Q, Zhang Y, Sun L, et al. High dose of extracellular ATP switched autophagy to apoptosis in anchorage-dependent and anchorage-independent hepatoma cells. *Purinergic Signal*. 2013;9(4):585-98.
129. Peralta C, Hotter G, Closa D, et al. The protective role of adenosine in inducing nitric oxide synthesis in rat liver ischemia preconditioning is mediated by activation of adenosine A2 receptors. *Hepatology*. 1999;29:126–132.
130. Ben Abdennebi H, Zaouali MA, Alfany-Fernandez I, et al. How to protect liver graft with nitric oxide. *World J Gastroenterol*. 2011;17(24):2879-89.
131. Zhang M, Carroll MC. Natural antibody mediated innate autoimmune response. *Mol Immunol*. 2007;44(1-3):103-10.
132. Carini R, Grazia De Cesaris M, Splendore R, et al. Role of phosphatidylinositol 3-kinase in the development of hepatocyte preconditioning. *Gastroenterology*. 2004;127:914–923.
133. Carini R, Grazia De Cesaris M, Splendore R, et al. Signal pathway responsible for hepatocyte preconditioning by nitric oxide. *Free Radic Biol Med*. 2003;34(8):1047-55.
134. Wendy K. Alderton, Chris E. Cooper, Richard G. Knowles. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J*. 2001; 357, 593–615.
135. Teoh N, Dela Pena A, Farrell G. Hepatic ischemic preconditioning in mice is associated with activation of NF-kappaB, p38 kinase, and cell cycle entry. *Hepatology*. 2002;36(1):94-102.
136. Funaki H, Shimizu K, Harada S, et al. Essential role for nuclear factor kappaB in ischemic preconditioning for ischemia-reperfusion injury of the mouse liver. *Transplantation*. 2002;74:551–556.
137. Thaler H. The fatty liver and its pathogenetic relation to liver cirrhosis. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klin Med* 1962;335:180-210.

138. Ahmed MHBC. Non alcoholic steatatohepatitis and metabolic syndrome. In: Byrne C, Wild S (eds), *Metabolic Syndrome*. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2005:279–305.
139. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clinic Proceedings* 1980;55(7):434-438.
140. Ahmed MH, Abu EO, Byrne CD. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): New challenge for general practitioners and important burden for health authorities? *Prim Care Diabetes* 2010;4(3):129–137.
141. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002;346(16):1221–31.
142. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012;55(6):2005-2023.
143. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288(2):462–468.
144. Kucera O, Cervinkova Z. Experimental models of non-alcoholic fatty liver disease in rats. *World J Gastroenterol* 2014; 20(26): 8364-8376.
145. Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10(11):686–90.
146. Koneru B, Reddy MC, de la Torre AN, Patel D, Ippolito T, Ferrante RJ. Studies of hepatic warm ischemia in the obese Zucker rat. *Transplantation* 1995;59:942-946.
147. Centers for Disease Control and Prevention: Overweight and obesity. Available at: <http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/obesity/>. Accessed December 13, 2014
148. Berson A, De Beco V, Letteron P, et al. Steatohepatitis inducing drugs cause mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation in rat hepatocytes. *Gastroenterology* 1998;114:764–74.
149. Fromenty B, Pessayre D. Impaired mitochondrial function in microvesicular steatosis. *J Hepatol* 1997;26:43–53.
150. Burt AD, Mutton A, Day CP. Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis. *Semin. Diag. Pathol.* 1998;15: 246–258

151. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34(3):274-285.
152. DuBray BJ, Gunter K, Hassan H, et al. Absence of BH3-only Proteins Mitigates Accentuation of Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury Caused by Steatosis. *Journal of Surgical Research*, 2012; 172(2):302–303.
153. Hilden M, Christoffersen P, Juhl E, Dalgaard J. Liver histology in a normal population-examinations of 503 consecutive fatal traffic casualties. *Scand J Gastroenterol* 1977;12:593–7.
154. Veteläinen R, van Vliet AK, van Gulik TM. Severe Steatosis Increases Hepatocellular Injury and Impairs Liver Regeneration in a Rat Model of Partial Hepatectomy. *Ann Surg* 2007;245: 44–50.
155. Selzner N, Selzner M, Jochum W, Clavien PA. Ischemic preconditioning protects the steatotic mouse liver against reperfusion injury: an ATP dependent mechanism *Journal of Hepatology* 2003;39: 55–61.
156. Underwood G. Prevalence of fatty liver in healthy male adults accidentally killed. *Aviat Space Environ Med* 1984;55:59–63.
157. Zois CD, Baltayiannis GH, Bekiari A, et al. Steatosis and steatohepatitis in postmortem material from Northwestern Greece. *World J Gastroenterol* 2010;16(31):3944-9.
158. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Non-alcoholic fatty liver disease: predictors of non-alcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology* 2001;121(1):91-100.
159. Tietge UJF, Schmidt HH-J, Schuz T et al. Reduced plasma adiponectin in NASH: Central obesity as an underestimated causative risk factor. *Hepatology* 2005;41:401.
160. Bonkovsky H, Jawaid Q, Tortorelli K, et al. Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 1999;31:421-429.
161. Marchesini G, Bugiansi E, Forlani G, et al. Non-alcoholic fatty liver steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003;37:917-923.
162. Ludwig J, Matteoni C, Younossi Z, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterol*. 1999;116:1413-19.
163. Mendler M, Turlin B, Moirand R et al. Insulin resistance – associated hepatic iron overload. *Gastroenterology* 1999;117:1155-1163.



164. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate A, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999;107:450-455.
165. Shimomura I, Matsuda M et al. Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. *Mol. Cell* 2000;6:77-87.
166. Fong DG, Nehra V et al. Metabolic and nutritional considerations in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2000;32:3-10.
167. Shefferd FR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action. Implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *New Eng J. Med.* 1999;341:248-257.
168. Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. Non-alcoholic steatosis and steatohepatitis Mitochondrial dysfunction in steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;282:193-199.
169. Brunt EM, Tiniakos DE. Pathology of steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16(5): 691-707.
170. Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, et al. Steatosis and hepatitis C virus: Mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 586-97.
171. Clouston AD, Jonsson JR, Purdie DM, et al. Steatosis: analysis of fibrosis and stellate cell activation. *J Hepatol* 2001; 34: 314–320.
172. Castera L, Hezode C, Roudot-Toraval F, et al. Worsening of steatosis is an independent factor of fibrosis progression and, paired liver biopsies. *Gut* 2003; 52:288–292.
173. Schwimmer JB, Celedon MA, Lavine JE, et al. Heritability of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2009;136(5):1585–1592.
174. Feldstein AE, Werneburg NW, Canbay A, et al. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF $\alpha$  expression via a lysosomal pathway. *Hepatology* 2004;40(1):185-194.
175. Mari M, Caballero F, Colell A, et al. Mitochondrial free cholesterol loading sensitizes to TNF $\alpha$  and Fas-mediated steatohepatitis. *Cell Metab* 2006;4(3):185-198.
176. Todd DJ, Lee AH, Glimcher LH. The endoplasmic reticulum stress response in immunity and autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2008;8(9):663-674.
177. Tilg H, Hotamisligil GS. Nonalcoholic fatty liver disease: Cytokine/adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology* 2006;131(3):934-945.

178. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in non-alcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 2010;52(5):1836–46.
179. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med* 2002;8(7):731-737.
180. Tevar AD, Clarke C, Wang J, et al. Clinical Review of Nonalcoholic Steatohepatitis in Liver Surgery and Transplantation. *J of the Am Coll of Surg*, 2010;210(4):515-526.
181. Nonomura A, et al. Clinical and pathological features of non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 2005;33(2):116-121.
182. Brunt EM, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999;94(9):2467-74 .
183. Kleiner DE, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41(6):1313-21.
184. Mendler MH, et al. Proposal for a histological scoring and grading system for non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2005;25:294-304.
185. Kooby DA, Fong Y, Suriawanata A. Impact of steatosis on perioperative outcome following hepatic resection. *J Gastrointest Surg*. 2004;7:1034–1044.
186. Behrns KE, Tsiotos GG, DeSouza NF, et al. Hepatic steatosis as a potential risk factor for major hepatic resection. *J Gastrointest Surg*. 1998;2:292–298.
187. Marcos A, Fisher R, Ham JM, et al. Liver regeneration and function in donor and recipient after right lobe adult to adult living donor liver transplantation. *Transplant*. 2000;69:1375–1379.
188. Chu MJJ, Premkumar R, Hickey AJR, et al. Steatotic livers are susceptible to normothermic ischemia-reperfusion injury from mitochondrial Complex-I dysfunction. *World J Gastroenterol* 2016;22(19): 4673-4684.
189. Selzner M, Rüdiger HA, Sindram D, et al. Mechanisms of ischemic injury are different in the steatotic and normal rat liver. *Hepatology* 2000; 32: 1280-1288.
190. Caraceni P, Domenicali M, Vendemiale G, et al. The reduced tolerance of rat fatty liver to ischemia reperfusion is associated with mitochondrial oxidative injury. *J Surg Res* 2005; 124: 160-168.
191. Mitchell P. Chemiosmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation. *Biol Rev Camb Philos Soc* 1966;41: 445-502.
192. Hand SC, Menze MA. Mitochondria in energy-limited states: mechanisms that blunt the signaling of cell death. *J Exp Biol* 2008;211: 1829-1840.

193. Rolo AP, Teodoro JS, Peralta C, Rosello-Catafau J, Palmeira CM. Prevention of I/R injury in fatty livers by ischemic preconditioning is associated with increased mitochondrial tolerance: the key role of ATPsynthase and mitochondrial permeability transition. *Transpl Int* 2009; 22: 1081-1090 .
194. Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg* 2000; 232: 155-162.
195. Montalvo-Jave EE, Piña E, Montalvo-Arenas C, et al. Role of ischemic preconditioning in liver surgery and hepatic transplantation. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 2074-2083.
196. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biochemistry* WH. Freeman, 2006pp. 656–660. ISBN 978-0-7167-8724-2.
197. Adams LA, Talwalkar JA. Diagnostic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2006;40(1):34-38.
198. Sattar N, Forrest E, Preiss D. Non-alcoholic fatty liver disease. *The BMJ*. 2014;349:4596.
199. Pantsari MW, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease presenting with an isolated elevated alkaline phosphatase. *J Clin Gastroenterol*. 2006;40(7):633-5.
200. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999;30(6):1356-62.
201. Unalp-Arida A, Ruhl CE. Non-invasive fatty liver markers predict liver disease mortality in the United States population. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2016;63(4):1170-1183.
202. Gao B. Therapeutic potential of interleukin-6 in preventing obesity- and alcohol-associated fatty liver transplant failure. *Alcoh*.2004; 34:59–65.
203. Taga T, Kishimoto T. gp130 and the interleukin-6 family of cytokines. *Annu Rev Immunol*, 1997;15:797–819.
204. Vincent JL, Dufaye P, Berre J, et al. Serial lactate determinations during circulatory shock. *Crit Care Med* 1983;11:449-451.
205. Mizock BA, Falk JL. Lactic acidosis in critical illness. *Crit Care Med* 1992;20:80-93.
206. Bernardin G, Pradier C, Tiger F, et al. Blood pressure and arterial lactate level are early indicators of short-term survival in human septic shock. *Intensive Care Med* 1996;22:17-25.
207. Bihari D, Gimson A, Lindridge J, Williams R. Lactic acidosis in fulminant hepatic failure. *J Hepatol* 1985;1:405-416.

208. Fahey JT, Lister G, Sanfilippo DJ 2nd, Edelstone DI. Hepatic and gastrointestinal oxygen and lactate metabolism during low cardiac output in lambs. *Pediatr Res* 1997;41:842-851.
209. Mizock BA. The hepatosplanchnic area and hyperlactatemia: a tale of two lactates. *Crit Care Med* 2001;29:447-449.
210. William C. Sessa. eNOS at a glance. *Journal of Cell Science* 2004; 117, 2427-2429
211. Vane JR, Botting RM. Formation by the endothelium of prostacyclin, nitric oxide and endothelin. *J Lipid Mediat* 1993;6(1 3):395 404.
212. Li H, Cui H, Kundu TK, et al. Nitric oxide production from nitrite occurs primarily in tissues not in the blood: critical role of xanthin oxidase and aldehyde oxidase. *J Biol Chem*. 2008 Jun 27;283(26):17855-63.
213. Knowles RG, Moncada S. "Nitric oxide synthases in mammals". *Biochem. J.* 1994; 298 (2): 249–58.
214. Ju H, Zou R, Venema VJ, Venema RC. Direct interaction of endothelial nitric-oxide synthase and caveolin-1 inhibits synthase activity. *J Biol Chem*. 1997;272:18522–18525.
215. Fulton, D., Gratton, J. P. and Sessa, W. C.. Post-translational control of endothelial nitric oxide synthase: why isn't calcium/calmodulin enough? *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2001; 299, 818-24.
216. Gang S, Gaoliang O, Shideng B. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2005;9(1):59–71.
217. Taylor BS, Alarcon LH, Billiar TR. Inducible nitric oxide synthase in the liver: regulation and function. *Biochemistry (Mosc)*. 1998;63(7):766-81.
218. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.* 2001; 357, 593–615.
219. Abu-Amara M, Yang SY, Seifalian A, et al. The nitric oxide pathway-evidence and mechanisms for protection against liver ischaemia reperfusion injury. *Liver Int* 2012; 32:531-543.
220. Hartmut J. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* Published 2003;284(1):15-26.
221. Oliveira-Paula GH, Lacchini R, Tanus-Santos JE. Inducible nitric oxide synthase as a possible target in hypertension. *Curr Drug Targets*. 2014;15(2):164-74.

222. Kossmann S, Hu H, Steven S, Schönfelder T, et al. Inflammatory monocytes determine endothelial nitric-oxide synthase uncoupling and nitro-oxidative stress induced by angiotensin II. *J Biol Chem*. 2014;289(40): 27540-50.
223. Lau KS, Grange RW, Isotani E, et al. nNOS and eNOS modulate cGMP formation and vascular response in contracting fast-twitch skeletal muscle. *Physiol. Genomics* 2000;2:21-27.
224. Mungrue IN, Bredt DS. nNOS at a glance: implications for brain and brawn. *Journal of Cell Science* 2004;117:2627-2629.
225. Zhou L, Zhu DY. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation and clinical implications. *Nitric Oxide* 2009; 20:223-230.
226. Stamler JS, Lamas S, Fang FC. Nitrosylation. The prototypic redox-based signaling mechanism. *Cell* 2001;106: 675-683.
227. Chen Y, Yang Y, Miller M L, et al. Hepatocyte-specific Gclc deletion leads to rapid onset of steatosis with mitochondrial injury and liver failure. *Hepatology*, 2007;45: 1118–1128.
228. Zelber-Sagi S, Webb M, Assy N, et al. Comparison of fatty liver index with non-invasive methods for steatosis detection and quantification. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2013;19(1):57-64.
229. Schattenberg JM, Galle PR. Animal models of non-alcoholic steatohepatitis: of mice and man. *Dig Dis* 2010;28:247-254.
230. Larter CZ, Yeh MM. Animal models of NASH: getting both pathology and metabolic context right. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23:1635-1648.
231. London RM, George J. Pathogenesis of NASH: animal models. *Clin Liver Dis* 2007; 11: 55-74.
232. Nagarajan P, Mahesh Kumar MJ, Venkatesan R. Genetically modified mouse models for the study of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1141-1153.
233. Yamashita T, Murakami T, Iida M, et al. Leptin receptor of Zucker fatty rat performs reduced signal transduction. *Diabetes* 1997; 46: 1077-1080 .
234. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol* 2000; 62:413-437.
235. Qamar A, Sheikh SZ, Masud A, et al. In vitro and in vivo protection of stellate cells from apoptosis by leptin. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1697-1705.
236. Kakuma T, Lee Y, Higa M, et al. Leptin, troglitazone, and the expression of sterol regulatory element binding proteins in liver and pancreatic islets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8536-8541.

237. Takiguchi S, Takata Y, Funakoshi A, et al. Disrupted cholecystokinin type-A receptor (CCKAR) gene in OLETF rats. *Gene* 1997;197: 169-175.
238. Fellmann L, Nascimento AR, Tibiriça E, Bousquet P. Murine models for pharmacological studies of the metabolic syndrome. *Pharmacol Ther* 2013; 137: 331-340.
239. Jump DB, Tripathy S, Depner CM. Fatty acid-regulated transcription factors in the liver. *Annu Rev Nutr* 2013; 33: 249-269.
240. Zou Y, Li J, Lu C, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life Sci* 2006; 79: 1100-1107.
241. Tschöp M, Heiman ML. Rodent obesity models: an overview. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001; 109: 307-319.
242. Lombardi B, Pani P, Schlunk FF. Choline-deficiency fatty liver: impaired release of hepatic triglycerides. *J Lipid Res* 1968; 9: 437-446.
243. Ghoshal AK. New insight into the biochemical pathology of liver in choline deficiency. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1995; 30: 263-273.
244. Veteläinen R, van Vliet A, van Gulik TM. Essential pathogenic and metabolic differences in steatosis induced by choline or methionine-choline deficient diets in a rat model. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1526-1533.
245. Uemura M, Fukui H. Innate immune reactivity of the liver in rats fed a choline-deficient L-amino-acid-defined diet. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6655-6661.
246. Nakae D, Mizumoto Y, Andoh N, et al. Comparative changes in the liver of female Fischer-344 rats after short-term feeding of a semipurified or a semisynthetic L-amino acid-defined choline-deficient diet. *Toxicol Pathol* 1995; 23: 583-590.
247. Uto H, Nakanishi C, Ido A, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, pioglitazone, inhibits fat accumulation and fibrosis in the livers of rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Hepatol Res* 2005; 32: 235-242.
248. Al-Humadi H, Theocharis S, Dontas I, et al. Hepatic injury due to combined choline-deprivation and thioacetamide administration: an experimental approach to liver diseases. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 3168-3177.
249. Tahan V, Eren F, Avsar E, et al. Rosiglitazone attenuates liver inflammation in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 3465-3472.
250. Ota T, Takamura T, Kurita S, et al. Insulin resistance accelerates a dietary rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2007; 132:282-293.

251. Tamborra R, Romano AD, Rollo T, et al. A silybin-phospholipid complex prevents mitochondrial dysfunction in a rodent model of nonalcoholic steatohepatitis. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 332: 922-932.
252. Zhang BH, Weltman M, Farrell GC. Does steatohepatitis impair liver regeneration? A study in a dietary model of non-alcoholic steatohepatitis in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 133-137.
253. Romestaing C, Piquet MA, Letexier D, et al. Mitochondrial adaptations to steatohepatitis induced by a methionine and choline-deficient diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 294: E110-E119
254. Serviddio G, Bellanti F, Tamborra R, et al. Uncoupling protein-2 (UCP2) induces mitochondrial proton leak and increases susceptibility of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) liver to ischaemia-reperfusion injury. *Gut* 2008; 57: 957-965.
255. Stärkel P, Sempoux C, Leclercq I, et al. Oxidative stress, KLF6 and transforming growth factor-beta up-regulation differentiate non-alcoholic steatohepatitis progressing to fibrosis from uncomplicated steatosis in rats. *J Hepatol* 2003; 39: 538-546.
256. Kirsch R, Clarkson V, Shephard EG, et al. Rodent nutritional model of non-alcoholic steatohepatitis: species, strain and sex difference studies. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18:1272-1282.
257. Martins PNA, Neuhaus P. Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat. *Liver international* 2007; ISSN 1478-3223.
258. Brand MI, Kononov A, Vladisavljevic A, Milsom JW. Surgical anatomy of the celiac artery and portal vein of the rat. *Lab Anim Sci* 1995; 45: 76–80.
259. Kongure K, Ishizaki M, Nemoto M, et al. A comparative study of the anatomy of the rat and human livers. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1999; 6: 171–5.
260. Clavien PA, Selzner M, Rudiger HA, et al: A prospective randomized study in 100 consecutive patients undergoing major liver resection with versus without ischemic preconditioning. *Ann Surg* 2003; 238: 843–852.
261. Jin LM, Liu YX, Zhou L, et al: Ischemic Preconditioning Attenuates Morphological and Biochemical Changes in Hepatic Ischemia/Reperfusion in Rats *Pathobiology* 2010;77:136–146.
262. Yadav SS, Sindram D, Perry DK, et al: Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology* 1999;30:1223–1231.

263. Breitenstein S, Apestegui C, Petrowsky H, et al: 'State of the art' in liver resection and living donor liver transplantation: a worldwide survey of 100 liver centers. *World J Surg* 2009; 33:797–803.
264. Liu YX, Jin LM, Zhou L, et al: Mycophenolate mofetil attenuates liver ischemia/reperfusion injury in rats. *Transpl Int* 2009; 22: 747–756.
265. Selzner M, Clavien PA. Fatty liver in liver transplantation and surgery. *Semin Liver Dis* 2001;21:105-113.
266. Mokuno Y, Berthiaume F, Tompkins RG, et al: Technique for Expanding the Donor Liver Pool: Heat Shock Preconditioning in a Rat Fatty Liver Model *Liver Transpl* 2004;10:264 –272.
267. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology*. 2003;37:1202–1219.
268. de Meijer VE, Kalish BT, Puder M, IJzermans NJ. Steatosis Is a Risk Factor for Complications and Mortality Following Major Hepatic Resection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Surgical Research*, 2010;158(2):175.
269. Park SW, Kang J-W, Lee S-M. Role of Kupffer cells in ischemic injury in alcoholic fatty liver. *Journal of Surgical Research*, 2014; 194(1):91–100
270. Selzner M, Clavien P-A. Resection of liver tumors: special emphasis on neoadjuvant and adjuvant therapy. In: Clavien P-A, editor. *Malignant liver tumors – current and emerging therapies*. Malden, MA: Blackwell Science; 1999: 137–49.
271. Scheele J, Stangl R, Altendorf-Hofmann A. Hepatic metastases from colorectal carcinoma: impact of surgical resection on the natural history. *Br J Surg*. 1990;77:1241–1246.
272. Paquet KJ, Koussouris P, Mercado MA, et al. Limited hepatic resection for selected cirrhotic patients with hepatocellular or cholangiocellular carcinoma: a prospective study. *Br J Surg*. 1991;78:459 –78462.
273. Wu CC, Yang MD, Liu TJ. Improvements in hepatocellular carcinoma resection by intraoperative ultrasonography or intermittent hepatic inflow blood occlusion. *Jpn Clin Oncol*. 1992;22:107–111.
274. Ploeg RJ, D'Alessandro AM, Knechtle SJ. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation—a multivariate analysis. *Transplantation* 1993;55:807.
275. Saidi RF, Chang J, Brooks S, et al. Ischemic Preconditioning and Intermittent Clamping Increase the Tolerance of Fatty Liver to Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in the Rat. *Transplantation Proceedings* 2007;39:3010–3014.



276. Burke A, Lucey MR. Non-alcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis and orthotopic liver transplantation. *Am J Transplant* 2004;4:686.
277. McCormack L, Petrowsky H, Jochum, W, et al. Hepatic Steatosis Is a Risk Factor for Postoperative Complications After Major Hepatectomy: A Matched Case-Control Study. *Ann of Surg* 2007;245(6):923-930.
278. Belghiti J, Hiramatsu K, Benoist S, et al. Seven hundred forty-seven hepatectomies in the 1990's: an update to evaluate the actual risk of liver resection. *J Am Coll Surg* 2000;191:38–46.
279. Lee CT, Dunn RL, Chen BT, et al: Impact of body mass index on radical cystectomy. *J Urol*, 2004;172:1281.
280. Tsukada K, Miyazaki T, Kato H, et al: Body fat accumulation and postoperative complications after abdominal surgery. *Am Surg* 2004;70:347.
281. Chu M, Hickey A, Phillips A, Bartlett A. The Impact of Hepatic Steatosis on Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Experimental Studies: A Systematic Review. *BioMed Research International*, 2013; Article ID 192029, 12 pag. doi:10.1155/2013/192029.
282. DuBray B Jr, Conzen K, Upadhyaya G, et al. BH3-only proteins contribute to steatotic liver ischemia–reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*, 2014;194(2):653–658.
283. Kim Y. Ischemia-reperfusion injury of the human liver during hepatic resection. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2003;10(3):195-9.
284. Hoekstra LT, van Trigt JD, Reiniers MJ, et al. Vascular occlusion or not during liver resection: the continuing story. *Dig Surg*. 2012;29(1):35-42.
285. Mendes-Braz M, Elias-Miró M, Jiménez-Castro MB, et al. “The Current State of Knowledge of Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury Based on Its Study in Experimental Models,” *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, Article ID 298657, 20 pages, 2012. doi:10.1155/2012/298657.
286. Hui AM, Kawasaki S, Makuuchi M, et al. Liver injury following normothermic ischemia in steatotic rat liver. *Hepatology*, 1994;20(5):1287–1293.
287. Hess ML, Manson NH. Molecular oxygen: friend and foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1984;16(11):969-85.
288. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;312(3):159-63.

289. Papadopoulos D, Siempis Th, Theodorakou E, Tsoulfas G. Hepatic Ischemia and Reperfusion Injury and Trauma: Current Concepts. *Archives of Trauma Research*. 2013;2(2):63-70.
290. Hakamada K, Sasaki M, Takahashi K, et al. Sinusoidal flow block after warm ischemia in rats with diet-induced fatty liver. *Journal of Surgical Research*, 1997; 70(1):12–20.
291. Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, et al: Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ Res* 1990;66:913.
292. Cavalieri B, Perrelli MG, Aragno M, et al: Ischemic preconditioning attenuates the oxidant-dependent mechanisms of reperfusion cell damage and death in rat liver. *Liver Transpl* 2002;8:990.
293. Koti RS, Yang W, Dashwood MR, et al: Effect of ischemic preconditioning on hepatic microcirculation and function in a rat model of ischemia reperfusion injury. *Liver Transpl* 2002;8:1182.
294. Serafin A, Rosello-Catafau J, Prats N, et al: Ischemic preconditioning affects interleukin release in fatty livers of rats undergoing ischemia/reperfusion. *Hepatology* 2004;39:688.
295. Fernandez L, Carrasco-Chaumel E, Serafin A, et al: Is ischemic preconditioning a useful strategy in steatotic liver transplantation? *Am J Transplant* 4:888, 2004.
296. Hardy KJ, Tancheroen S, Shulkes A: Comparison of continuous versus intermittent ischaemia-reperfusion during liver resection in an experimental model. *Br J Surg* 1995;82:833.
297. Aller MA, Nava MP. 2009. Anesthesia, Analgesia and Postoperative Care in Microsurgery in Liver Research. Edited by Aller MA and Arias J. Bentham Science Publishers. p 49-70.
298. Isozaki H, Adam R, Gigou M, et al: Experimental study of the protective effect of intermittent hepatic pedicle clamping in the rat. *Br J Surg* 1992;79:310.
299. Horiuchi T, Muraoka R, Tabo T, et al: Optimal cycles of hepatic ischemia and reperfusion for intermittent pedicle clamping during liver surgery. *Arch Surg* 1995;130:754.
300. Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, et al: Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion. *Am J Pathol* 1994;145:1421.
301. Koteish A, Diehl AM. Animal models of steatosis. *Semin Liver Dis*. 2001;21:89 – 104.

302. Caraceni P, Nardo B, Domenicali M, et al. Ischemia-reperfusion injury in the rat fatty liver: the role of nutritional status. *Hepatology*. 1999;29:1139–1146.
303. Gasbarrini A, Addolorato G, Di Campli C, et al., “Gender affects reperfusion injury in rat liver,” *Digestive Diseases and Sciences*, 2001;46(6):1305–1312.
304. Yoon S-Y , Kim CY, Han HJ, et al. Protective effect of ischemic post conditioning against hepatic ischemic reperfusion injury in rat liver. *Annals of Surgical Treatment and Research* 2015;88(5):241-245.
305. Anstee QM, Goldin RD. Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. *Int J Exp Pathol* 2006; 87:1.
306. Jiang Y, Tang JJ, Wu BQ, et al. The Protective Effects of Different-Time-Ischemic Preconditioning on the Reperfusion Injury in Fatty Livers in Rats. *PLoS ONE*,2013;8(3): e58086. doi: 10.1371/journal.pone.0058086.
307. King KL, Tang GJ, Wu CW, Lui WY. Ischaemic change of the human intestine after total portal occlusion during liver resection. *S Afr J Surg*. 2001;39(2):46-8.
308. Yamauchi H, Baca I, Mittmann U. “Post-ischemic liver damage in rats: effect of some therapeutic interventions on survival rate,” *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 1982;138(1):63–70.
309. Sarafin A, Rossello-Catafau J, Prats N, et al. Ischemic preconditioning increases the tolerance of fatty liver to hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Am J Pathol* 2002;161:587–601.
310. Giovanardi RO, Rhoden EL, Cerski CT, et al. Pharmacological Preconditioning Using Intraportal Infusion of L-Arginine Protects Against Hepatic Ischemia Reperfusion Injury. *Journal of Surgical Research*, 2008;155(2):244–253.
311. Camara-Lemarroy CR, Guzman-de la Garza FJ, Alarcon-Galvan G. The effects of NMDA receptor antagonists over intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Eur J Pharmacol* 2009;621: 78–85.
312. Sydor S, Gu Y, Schlattjan M, Bechmann LP, et al. Steatosis does not impair liver regeneration after partial hepatectomy. *Lab Invest*. 2013;93(1):20-30.
313. Iniguez M, Dotor J, Feijoo E. Novel pharmacologic strategies to protect the liver from ischemia-reperfusion injury. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov* 2008;3:9–18.
314. Karatzas Th, Neri A-A, Baibaki M-E, Dontas IA. Rodent models of hepatic ischemia–reperfusion injury: time and percentage-related pathophysiological mechanisms. *Journal of Surgical Research* , 2014;191(2):399 – 412.

315. Chen YW, Li CH, Zhang AQ, et al. Preserving Hepatic Artery Flow During Portal Triad Blood Inflow Occlusion Reduces Liver Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Journal of Surgical Research*, 2010;174(1):150–156.
316. Kandilis A, Papadopoulou I, Koskinas J, Sotiropoulos G, Tiniakos D. Liver innervation and hepatic function: new insights. *Journal of Surg Res*, 2014;194(2):511–519.
317. Peralta C, Bartrons R, Riera L, et al. Hepatic preconditioning preserves energy metabolism during sustained ischemia. *Am J Physiol* 2000;279:163–71.
318. Peralta C, Bartrons R, Serafin A, et al. Adenosin monophosphate-activated protein kinase mediates the protective effects of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury. *Hepatology* 2001;34:1164–73.
319. Peralta C, Prats N, Xaus C, et al. Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury by hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology* 1999;30:1481–9.
320. Serafín A, Fernández-Zabalegui L, Prats N, et al. Ischemic preconditioning: tolerance to hepatic ischemia-reperfusion injury. *Histol Histopathol* 2004;19: 281-289.
321. Hirano T, Ishihara K, Hibi M. Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the IL-6 family of cytokine receptors. *Oncogene* 2000;19:2548–2556.
322. Heinrich PC, Behrmann I, Muller-Newen G, Schaper F, Graeve L. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. *Biochem J* 1998;334:297–314.
323. Koneru B, Dikdan G. Hepatic steatosis and liver transplantation current clinical and experimental perspectives. *Transplantation* 2002;73:325–330.
324. Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA, Ciliberto G, Furth EE, Poli V, Taub R. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science* 1996;274:1379–1383.
325. Camargo CA Jr, Madden JF, Gao W, Selvan RS, Clavien PA. Interleukin-6 protects liver against warm ischemia/reperfusion injury and promotes hepatocyte proliferation in the rodent. *Hepatology* 1997;26:1513–1520.
326. Sun Z, Klein AS, Radaeva S, et al. In Vitro Interleukin-6 Treatment Prevents Mortality Associated With Fatty Liver Transplants in Rats. *Gastroenterol*, 2003;125:202–215.
327. Hong F, Kim WH, Tian Z, et al. Elevated interleukin-6 during ethanol consumption acts as a potential endogenous protective cytokine against ethanol-

- induced apoptosis in the liver: involvement of induction of Bcl-2 and Bcl-x(L) proteins. *Oncogene* 2002;21:32–43.
328. Arai M, Peng XX, Currin RT, et al. Protection of sinusoidal endothelial cells against storage/reperfusion injury by prostaglandin E2 derived from Kupffer cells. *Transplantation* 1999;68:440–445.
329. Chen RH, Chang MC, Su YH, et al. Interleukin-6 inhibits transforming growth factor-beta-induced apoptosis through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and signal transducers and activators of transcription 3 pathways. *J Biol Chem* 1999;274:23013–23019.
330. Kannerup AS, Gronbaek H, Funch-Jensen P, et al: Cytokine changes during warm ischemia and reperfusion of the pig liver with or without preconditioning. *Eur Surg Res* 2009; 42: 216–222.
331. Teoh N, Leclercq I, Pena AD, et al. Low-dose TNF-alpha protects against hepatic ischemia-reperfusion injury in mice: implications for preconditioning. *Hepatology* 2003;37:118–128.
332. Teoh N, Field J, Sutton J, et al: Dual role of tumor necrosis factor-alpha in hepatic ischemia-reperfusion injury: studies in tumor necrosis factor-alpha gene knockout mice. *Hepatology* 2004;39: 412–421.
333. Selzner N, Selzner M, Odermatt B, et al. ICAM-1 triggers liver regeneration through leukocyte recruitment and Kupffer cell-dependent release of TNF-alpha/IL-6 in mice. *Gastroenterology* 2003;124:692–700.
334. Siriussawakul A, Zaky A, Lang JD. Role of nitric oxide in hepatic ischemia-reperfusion injury. *World J Gastroenterol* 2010 December 28; 16(48): 6079-6086.
335. Hsiao IT, Lin KJ, Chang SI, et al. Impaired liver regeneration of steatotic rats after portal vein ligation: a particular emphasis on (99m)Tc-DISIDA scintigraphy and adiponectin signaling. *J Hepatol.* 2010;52(4):540-9.
336. Theodoraki K, Arkadopoulos N, Fragulidis G, et al. Transhepatic Lactate Gradient in Relation to Liver Ischemia/Reperfusion Injury During Major Hepatectomies. *Liver Transpl.* 2006;12(12):1825-31.
337. Record CO, Chase RA, Williams R, Appleton D. Disturbances in lactate metabolism in patients with liver damage due to paracetamol overdose. *Metabolism* 1981;30:638-643.
338. Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *J Invest Surg* 2009; 22: 46-55.

339. Kim YM, de Vera ME, Watkins SC, Billiar TR. Nitric oxide protects cultured rat hepatocytes from tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis by inducing heat shock protein 70 expression. *J Biol Chem* 1997; 272: 1402-1411.
340. Clavien PA, Emond J, Vauthey JN, Belghiti J, Chari RS, Strasberg SM. Protection of the liver during hepatic surgery. *J Gastrointest Surg* 1994;8:313-327.
341. Romanque P, Diaz A, Tapia G. Delayed ischemic preconditioning protects against liver ischemia-reperfusion injury in vivo. *Transplant Proc*, 2010;42:1569–1575.
342. Serafin A, Rosello´-Catafau J, Prats N, et al. Ischemic Preconditioning Increases the Tolerance of Fatty Liver to Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in the Rat. *AJP* August 2002; 161(2):587-601.
343. Peralta C, Hotter G, Closa D, et al. Protective effect of preconditioning on the injury associated to hepatic ischemia-reperfusion: role of nitric oxide and adenosine. *Hepatology*1997, 25:934–937.
344. Xue F, Wang G, Pang Z, et al. Protective Effect of Glutathione Against Liver Warm Ischemia-Reperfusion Injury in Rats Is Associated With Regulation of P-selectin and Neutrophil Infiltration. *The Anatomical Record*, 2008;291:1016–1022.
345. Ohmori H, Dhar DK, Nakashima Y, et al. Beneficial effects of FK409, a novel nitric oxide donor, on reperfusion injury of rat liver. *Transplantation* 1998, 66:579–585.
346. Liu P, Yin R, Nagele R, Wong PYK: Inhibition of NOS attenuates peroxynitrite generation, but augments neutrophil infiltration in hepaticischemia-reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* 1998, 284:1139–1146.
347. Kobayashib H, Nonami T, Kurokawa T, et al. Role of endogenous nitric oxide in ischemia-reperfusion injury in rat liver. *J Surg Res* 1995, 59:772–779.
348. Lesurtel M, Lehmann K, Rougemont O, Clavien PA. Clamping techniques and protecting strategies in liver surgery. *HPB* 2009;11:290–295.
349. Capussotti L, Nuzzo G, Polastri R, et al. Continuous versus intermittent portal triad clamping during hepatectomy in cirrhosis. Results of a prospective, randomized clinical trial. *Hepatogastroenterol*, 2003; 50:1073–1077.
350. Azoulay D, Lucidi V, Andreani P, et al. Ischemic preconditioning for major liver resection under vascular exclusion of the liver preserving the caval flow: a randomized prospective study. *J Am Coll Surg*, 2006;202:203–211.

351. Petrowsky H, McCormack L, Trujillo M, Selzner M, Jochum W, Clavien PA. A prospective, randomized, controlled trial comparing intermittent portal triad clamping versus ischemic preconditioning with continuous clamping for major liver resection. *Ann Surg*, 2006;244:921–928.
352. Smyrniotis V, Theodoraki K, Arkadopoulos N, et al. Ischemic preconditioning versus intermittent vascular occlusion in liver resections performed under selective vascular exclusion: a prospective randomized study. *Am J Surg*, 2006;192:669–674.
353. DeOliveira ML, Graf R, Clavien PA. Ischemic preconditioning: promises from the laboratory to patients—sustained or disillusioned? *Am J Transplant*, 2008; 8:489–491.
354. Gurusamy KS, Kumar Y, Sharma D, Davidson BR. Methods of vascular occlusion for elective liver resections. *Cochrane Database*, 2007, Syst Rev 4:CD006409.
355. Rahbari NN, Wente MN, Schemmer P, et al. Systematic review and meta-analysis of the effect of portal triad clamping on outcome after hepatic resection. *Br J Surg*, 2008; 95:424–432.



## Intermittent Ischemic Preconditioning Protects Against Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury and Extensive Hepatectomy in Steatotic Rat Liver

Nikolaos Sikalias, Theodore Karatzas, Konstantinos Alexiou, Lamprini Mountzalia, Maria Demonakou, Ioannis D. Kostakis, Argyro Zacharioudaki, Apostolos Papalolis & Gregory Kouraklis

To cite this article: Nikolaos Sikalias, Theodore Karatzas, Konstantinos Alexiou, Lamprini Mountzalia, Maria Demonakou, Ioannis D. Kostakis, Argyro Zacharioudaki, Apostolos Papalolis & Gregory Kouraklis (2017): Intermittent ischemic preconditioning protects against hepatic ischemia-reperfusion injury and extensive hepatectomy in steatotic rat liver, *Journal of Investigative Surgery*, DOI: [10.1089/jis.2017.1304844](https://doi.org/10.1089/jis.2017.1304844)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1089/jis.2017.1304844>

Journal of Investigative Surgery, 2017, 20(1), 1–12, 2017  
Copyright © 2017 Taylor & Francis Group LLC  
ISSN 0964-6560 print/ISSN 1331-0803 online  
DOI: [10.1089/jis.2017.1304844](https://doi.org/10.1089/jis.2017.1304844)



## Intermittent Ischemic Preconditioning Protects Against Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury and Extensive Hepatectomy in Steatotic Rat Liver

Nikolaos Sikalias, MD,<sup>1</sup> Theodore Karatzas, MD, PhD,<sup>2</sup> Konstantinos Alexiou, MD,<sup>1</sup> Lamprini Mountzalia, MD,<sup>1</sup> Maria Demonakou, MD, PhD,<sup>3</sup> Ioannis D. Kostakis, MD, MSc, PhD,<sup>2</sup> Argyro Zacharioudaki, PhD,<sup>4</sup> Apostolos Papalolis, PhD,<sup>4</sup> Gregory Kouraklis, MD, PhD<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Surgery, Sismanioglou General Hospital, Athens, Greece, <sup>2</sup>Second Department of Proctologic Surgery, National and Kapodistrian University of Athens, School of Medicine, Athens, Greece, <sup>3</sup>Department of Pathology, Sismanioglou General Hospital, Athens, Greece, <sup>4</sup>ELLEN Pharmaceuticals Research Center, Piraeus, Greece

### ABSTRACT

**Background:** Hepatic steatosis causes severe liver damage and has deleterious effects when associated with ischemia-reperfusion mechanisms. Ischemic preconditioning (IPC) protects liver against prolonged ischemia by improving micro-circulation and reducing lipid peroxidation. We investigated the effect of intermittent IPC on liver ischemia-reperfusion injury (IRI) and massive hepatectomy in severe hepatic steatosis. **Methods:** Severe hepatic steatosis was performed by 12–14 weeks of choline-free diet in 100 Wistar rats. We induced 30-minute ischemia-reperfusion manipulations and massive hepatectomy with or without prior IPC in steatotic livers and also found 24 hours of reperfusion blood concentrations, and IL-6, TNF- $\alpha$ , NO and Lactate in blood and liver tissue were measured. **Results:** Steatotic rats subjected to hepatic ischemia-reperfusion alone after massive hepatectomy showed severe liver damage with significantly increased values of AST, ALT, TNF- $\alpha$  and Lactate and significantly reduced IL-6 and NO, while no rats survived for more than 24 hours. On intermittent steatotic rats subjected to intermittent IPC, 24 hours before ischemia-reperfusion, increased (increased 20 days survival (20%), lower values of AST, ALT, TNF- $\alpha$  and Lactate, and increased IL-6 and NO levels. Simple and intermittent IPC manipulations, 1 hour before the IR and extended hepatectomy, did not prolong survival more than 17 and 46 hours, respectively. Simple IPC, 24 hours before IR and extended hepatectomy did not lower postoperative survival (16.7%). **Conclusions:** Hepatic steatosis and IR after major liver surgery largely affect morbidity and mortality. Intermittent IPC, 24 hours before IR and massive hepatectomy, promotes higher 20-day survival and improved liver function parameters.

**Keywords:** simple ischemic preconditioning, intermittent ischemic preconditioning, ischemia-reperfusion injury, massive hepatectomy, fatty liver disease, steatotic liver



## ΥΠΟΤΡΟΦΙΑ

Η παρούσα χειρουργική μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Ερευνητικό και Πειραματικό Κέντρο ΕΛΠΕΝ ΑΕ και τιμήθηκε με την απονομή υποτροφίας για την χειρουργική έρευνα και την πρωτοτυπία της από το αντίστοιχο ερευνητικό κέντρο.

