

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**

**ΚΑΛΛΙΡΡΟΗ Γ. ΑΥΓΟΥΣΤΑΤΟΥ
ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΟΛΟΓΟΣ-ΕΝΤΑΤΙΚΟΛΟΓΟΣ**

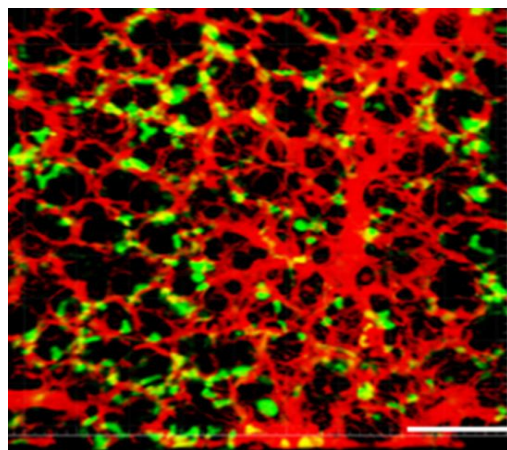
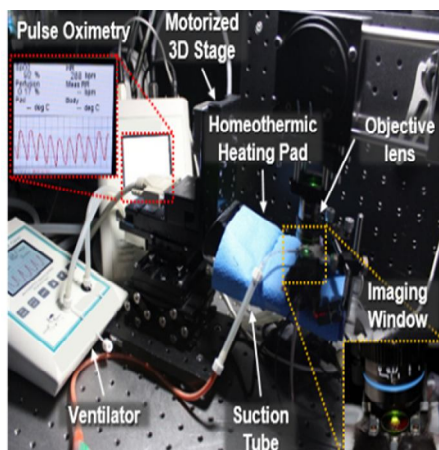
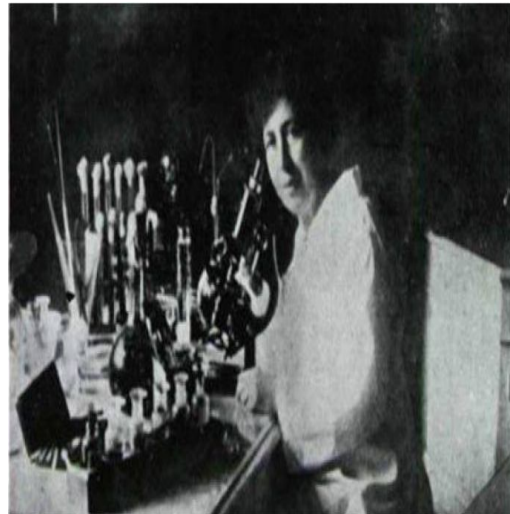
**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΟΞΑΙΜΙΚΗΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ
ΝΟΡΜΟΞΑΙΜΙΚΗΣ ΑΝΑΤΑΞΗΣ ΤΟΥ ΣΟΒΑΡΟΥ
ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟΥ SHOCK ΣΤΗΝ ΕΠΕΡΧΟΜΕΝΗ ΣΗΨΗ
ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΤΗΣ
ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΑΛΜΠΑΝΟΠΟΥΛΟΣ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΚΠΑ**

ΑΘΗΝΑ 2021

*Στους γονείς μου Γεράσιμο και Στάμω
Στον πνευματικό μου πατέρα Δημήτριο Μπιλάλη*

Στην οικογένεια μου



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η διδακτορική διατριβή με τίτλο «η επίδραση της υποξαιμικής έναντι της νορμοξαιμικής ανάταξης του σοβαρού αιμορραγικού shock στην επερχόμενη σήψη και στις διαταραχές του ενδοθηλίου της πνευμονικής κυκλοφορίας» εκπονήθηκε στο Κέντρο Μελέτης Εντατικής και Επείγουσας Ιατρικής «Γεώργιος Λιβανός», στο Κέντρο Εφαρμοσμένης Βιοϊατρικής Εκπαίδευσης και Έρευνας «Μαριάνθη Σίμου» και στο Πειραματικό Χειρουργείο του ΠΓΝ «Ευαγγελισμός». Η ολοκλήρωση του παρόντος ερευνητικού έργου έγινε εφικτή χάρις στη χρηματοδότηση του ιδρύματος «ΘΩΡΑΞ» και των χορηγών «Γεώργιος & Φωτεινή Λιβανού», στις οικογένειες των οποίων επιθυμώ να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Εντατικής Θεραπείας κ.Α. Αρμαγανίδη για την οργάνωση του Πειραματικού Χειρουργείου εκ του μηδενός, για την δική μου εκπαίδευση σε θέματα οργάνωσης, διαδικασίας, διοίκησης άνευ των οποίων αυτό το απαιτητικό και πρωτοπόρο πείραμα δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί. Επιθυμώ επίσης να τον ευχαριστήσω για την συνεχή του βοήθεια -έκτοτε- σε θέματα κλινικά και διοικητικά αφορώντα την Εντατική Θεραπεία, την Επείγουσα Ιατρική και την εκπαίδευση.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αν.Καθηγητή Χειρουργικής κ. Αλμπανόπουλο επιβλέποντα της παρούσης τόσο για την επιστημονική βοήθεια στο παρόν απαιτητικό πόνημα, όσο και για την άψογη και άμεση κλινική συνεργασία στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς στις τωρινές δυσοίωνες συνθήκες στο Σύστημα Υγείας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής κ.Νικόλαο Καβαντζά για την ταχεία, αξιόπιστη και άοκνη συνεργασία καθόλη την διάρκεια του πειράματος.

Ευχαριστώ ιδιαίτερος την Καθηγήτρια κ. Χριστίνα Ρούτση για την υποστήριξη σε επιστημονικά θέματα και την ταχεία διεκπεραίωση προκύπτοντων προβλημάτων.

Ευχαριστώ τις συναδέλφους κκ. Εύη Δούβλου, Μαρία Κρασιά για την ανιδιοτελή, επιμελή και αξιόπιστη συνεργασία τους,όπως και την τεχνολόγο κ.Ζωή Κόλλια άνευ των οποίων το in vivo πείραμα δεν θα είχε πραγματοποιηθεί και έτσι δεν θα είχε αποδώσει υψηλό συντελεστή απήχησης και ετεροαναφορές αντιστοίχως υψηλές.

Τέλος θα ήθελα να εκφράσω την βαθύτατη ευγνωμοσύνη μου στην αφυπηρητήσασα Διευθύντριά μου Δρ.Ειρήνη Καρατσάλου για την ακούραστη υποστήριξή της σε όλες τις περιστάσεις και σε όλες τις δυσκολίες μου.

ΣΥΝΟΠΤΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

ΘΕΜΑ : «Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΟΞΑΙΜΙΚΗΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΝΟΡΜΟΞΑΙΜΙΚΗΣ ΑΝΑΤΑΞΗΣ ΤΟΥ ΣΟΒΑΡΟΥ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟΥ SHOCK ΣΤΗΝ ΕΠΕΡΧΟΜΕΝΗ ΣΗΨΗ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΤΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ»

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

ΚΩΝ/ΝΟΣ ΑΛΜΠΑΝΟΠΟΥΛΟΣ Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, Α' Προπαιδευτική Κλινική Χειρουργικής ΓΝΑ "ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ"

ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΑ ΜΕΛΗ:

ΧΡΙΣΤΙΝΑ ΡΟΥΤΣΗ Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής, Α' Πανεπιστημιακή Κλινική Εντατικής Θεραπείας ΓΝΑ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ"

ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ ΑΡΜΑΓΑΝΙΔΗΣ Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, Β' Πανεπιστημιακή Κλινική Εντατικής Θεραπείας ΠΓΝ "ΑΤΤΙΚΟΝ"

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΚΩΝ/ΝΟΣ ΑΛΜΠΑΝΟΠΟΥΛΟΣ Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ, Α' Προπαιδευτική Κλινική Χειρουργικής ΓΝΑ "ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ"

ΧΡΙΣΤΙΝΑ ΡΟΥΤΣΗ Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ, Α' Πανεπιστημιακή Κλινική Εντατικής Θεραπείας ΓΝΑ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ"

ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ ΑΡΜΑΓΑΝΙΔΗΣ Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ, Β' Πανεπιστημιακή Κλινική Εντατικής Θεραπείας ΠΓΝ "ΑΤΤΙΚΟΝ"

ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΚΑΒΑΝΤΖΑΣ Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ, Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής Πανεπιστημίου Αθηνών

ΗΡΑΚΛΗΣ ΤΣΑΓΚΑΡΗΣ Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ, Β' Πανεπιστημιακή Κλινική Εντατικής Θεραπείας ΠΓΝ "ΑΤΤΙΚΟΝ"

ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΑΛΕΞΑΚΗΣ Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ, Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών ΓΝΑ "ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ"

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΘΕΟΔΩΡΟΠΟΥΛΟΣ Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ, Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών ΓΝΑ "ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ"

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.	ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
1.1.	Εισαγωγή	9
1.2.	Ορισμοί	10
1.3.	Επιδημιολογικά στοιχεία	11
1.4.	Ταξινόμηση αιμορραγικής καταπληξίας	11
1.5.	Παθοφυσιολογία αιμορραγικής καταπληξίας	12
1.5.1.	Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί	13
1.5.1.1.	Συστηματική απάντηση	13
1.5.1.2.1.	Κυτταρική απάντηση	15
1.5.3.2.1.1.	Κυτταρικές αντιδράσεις	16
1.5.3.2.1.2.	Παραγωγή των ROS	19
1.5.3.2.1.3.	Μόρια βλάβης που σχετίζονται με τις μοριακές δομές-	22
1.5.3.2.1.4.	Ενδοθήλιο - Ενδοθηλιακός Γλυκοκάλυκας	24
1.5.4.	Ιστική απάντηση	27
1.6.	Κλινικά στάδια αιμορραγικής καταπληξίας	28
1.7.	Αντιμετώπιση	29
1.8.	Παθοφυσιολογία Ανάταξης Αιμορραγικής Καταπληξίας	31
1.8.1.	Βλάβη Ισχαιμίας / Επαναιμάτωσης	31
1.8.1.1.	Ιστική Βλάβη	33
1.8.1.1.1.	Κυτταρικός θάνατος	33
1.8.1.1.2.	Πρωτεΐνες και μεταλλοπρωτεΐνες	35
1.8.1.1.3.	Φαινόμενο Μη-Επανακυκλοφορίας	35
1.8.1.2.	Οξειδωτική Βλάβη -ROS /RNS	36
1.8.1.2.1.	Πηγές ROS /RNS κατά την επαναϊμάτωση	36
1.8.1.2.2.	Αντιδράσεις γένεσης ROS/RNS	37
1.8.1.2.3.	Ο ρόλος του NO στην βλάβη I/E	40
1.8.1.2.4.	Δράσεις ROS/RNS	42
1.8.1.3.	Συστηματική φλεγμονώδης απάντηση -	47
1.8.1.3.1.	Ο ρόλος ενδογενών σημάτων κινδύνου	47
1.8.1.3.2.	Ο ρόλος τών κυτταροκινών	48
1.8.1.3.3.	Ο ρόλος του συμπληρώματος	50
1.8.1.3.4.	Ο ρόλος τών λευκοκυττάρων	51
1.8.1.3.5.	Ο ρόλος του ενδοθηλίου και του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα	53
1.8.1.3.6.	Ο ρόλος των μορίων προσκόλλησης	56
1.9.	Ο ρόλος της ανάταξης του αιμορραγικού shock στην βλάβη I/E πνευμόνων	60
	Εισαγωγικά	60
1.9.1.	Ο ρόλος της συσσώρευσης ασβεστίου	61
1.9.2.	Ο ρόλος του οξειδωτικού stress	62
1.9.3.	Ο ρόλος της μεταγραφής	65
1.9.4.	Ο ρόλος του κυτταρικού θανάτου	66
1.9.5.	Ο ρόλος της φλεγμονής	67
1.9.6.	Ο ρόλος του πνευμονικού ενδοθηλίου	72
1.9.7.	Ο ρόλος του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκος	73
1.9.8.	Ο ρόλος του PCEB-ACE	74
1.9.9.	Ο ρόλος του επιθηλίου	76
1.10.	Πολυοργανική Ανεπάρκεια	78
1.10.1	Ορισμός	78
1.10.2.	Επιδημιολογικά δεδομένα	79
1.10.3.	Ο ρόλος της ανάταξης του αιμορραγικού shock στην ανάπτυξη MODS	80
1.10.4.	Εξέλιξη της MODS	81
1.11.	Πειραματικά Μοντέλα Βλάβης Ισχαιμίας –Επαναιμάτωσης	83
1.12.	Πειραματικά Μοντέλα αιμορραγίας και ανάταξης	84
1.13.	Στρατηγικές περιορισμού της βλάβης I/E	87
1.14.	Ανάταξη της Αιμορραγικού shock	92

1.14.1.	Ανάταξη με υγρά	92
1.14.1.1.	Εισαγωγή	92
1.14.1.2.	Στόχοι και αρχές της αναζωογόνησης	93
1.14.1.3.	Μέσα αναζωογόνησης	95
1.14.1.3.1.	Κρυσταλλοειδή έναντι κολλοειδών	97
1.14.1.3.2.	Φυσικά κολλοειδή- αλβουμίνη	98
1.14.1.3.3.	Τεχνητά κολλοειδή-ζελατίνες	100
1.14.1.3.4.	Μετάγγιση	100
1.14.2.	Πειραματικά δεδομένα υποξαιμικής επανααιμάτωσης	104
1.15.	Σκοπός της Πειραματικής Μελέτης	106
2.	Ειδικό Μέρος	107
2.1.	Υλικό και Μέθοδος	108
2.1.1.	Ερευνητικό πρωτόκολλο	109
2.1.2	Μέτρηση MPO πνεύμονος	111
2.1.3.	Μέτρηση MDA πνεύμονος	112
2.1.4.	Ιστολογική Εξέταση Πνευμόνων	113
2.1.5.	Ανοσοϊστοχημεία	114
2.1.6.	Πρωτόκολλο εκτίμησης δραστικότητας PCEB-ACE...	115
2.1.7.	Στατιστική Ανάλυση	118
2.2.	Αποτελέσματα	119
2.3.	Συζήτηση	127
2.4.	Συμπεράσματα	134
2.5.	Περίληψη Ελληνική	135
2.6.	Περίληψη Αγγλική	136
2.7.	Βιβλιογραφικές Παραπομπές	137

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΠΙΝΑΚΩΝ

Σχήμα 1	Μεταβολές της CO ₂ σε σχέση με την DO ₂	16
Σχήμα 2	Βιοχημικές αλλαγές στα μιτοχόνδρια στην I/E	19
Σχήμα 3	Καταρράκτης αντιδράσεων ισχαιμίας-επαναιμάτωσης	21
Σχήμα 4.	Παραγωγή ROS-αντιοξειδωτική δραστηριότητα μετά την ισχαιμία	22
σχήμα 5.	Αντιδράσεις γένεσης ROS/RNS	39
Σχήμα 6:	Αντιδράσεις γένεσης των ROS κατά την επανααιμάτωση	40
Σχήμα 7	Μηχανισμοί που προκαλούν την φλεγμονώδη βλάβη στην I/E	46
Σχήμα 8.	Κύλιση των ουδετεροφίλων πάνω στο ενδοθήλιο και εξαγγείωση	47
Σχήμα 9.	Παθοφυσιολογία Βλάβης-Ισχαιμίας Επαναιμάτωσης πνεύμονος	64
Σχήμα 10.	Βλάβη ισχαιμίας επανααιμάτωσης πνεύμονος	65
Σχήμα 11.	Επιπλοκές ανάταξης αιμορραγικού shock	77
Σχήμα 12.	Πρόκληση του SIRS και MODS	78
Σχήμα 13.	Μοντέλο εξέλιξης στο καταβολικό σύνδρομο.	82
Σχήμα.14	Χρόνοι θεραπευτικών παρεμβάσεων στην βλάβη I/E	89
Εικόνα 1.	Κυτιογραφήματα απολήξεων των %M, v, Amax/Km	123
Εικόνα 2.	Ιστοπαθολογία πνευμόνων και ανοσοϊστοχημική έκφραση	126
Πίνακας 1.	Κλινική Αξιολόγηση βαρύτητας αιμορραγικού shock	28
Πίνακας 2.	Οι δράσεις του ανιόντος του ONOO ⁻ στα όργανα	43
Πίνακας 3.	Κριτήρια εισαγωγής στο πείραμα	108
Πίνακας 4.	Βαθμονόμηση ιστολογικής βλάβης	113
Πίνακας 5.	Αιμοδυναμικές παράμετροι μετρηθείσες ή υπολογισθείσες	120
Πίνακας 6.	Δείκτες λειτουργικότητας του PCEB-ACE	121
Πίνακας 7.	Αναλυτικά αποτελέσματα MPO, MDA	124
Πίνακας 8.	Αναλυτικά αποτελέσματα ιστοπαθολογίας και ανοσοϊστοχημείας	125



ΓΕΝΙΚΟ

ΜΕΡΟΣ

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι θάνατοι εξ αιμορραγίας αποτελούν παγκόσμιο πρόβλημα με αυξητικό αριθμό λόγω πολεμικών συρράξεων. Ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζεται έντονο για τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς του αιμορραγικού shock και της εξέλιξης του, και την παθοφυσιολογία και την αντιμετώπιση των άμεσων και αψότερων επιπλοκών (Thompson et al 2019, Cannon 2018). Το αιμορραγικό shock είναι μοντέλο ολικής ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και έτσι αποτελεί ιδανική επιλογή για την μελέτη της άμβλυνσης της βλάβης αυτής (Abassi et al 2020). Η προσβολή του ενδοθηλίου και του πνεύμονα είναι πρόιμη και καθοριστική για την εξέλιξη (Astapenko 2019, Hutchings et al 2018, van Leeuwen et al 2020). Το σύνδρομο επίκτητης αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) αποτελεί το 50%-80% των θανάτων από πολυοργανική ανεπάρκεια στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας. Ευθύνεται για τεράστια νοσηρότητα, χρόνους ενδονοσοκομειακής νοσηλείας, απωλεσθείσες εργατοώρες στους επιζώντες ασθενείς και σαφώς επιβαρύνει τους προϋπολογισμούς της υγείας (Sauia et al 2017, Thompson et al 2019).

Η ανάταξη με υγρά βελτιώνει την τριχοειδική πίεση και την άρδευση στην μικροκυκλοφορία, αλλά καταστρέφει την δομή και λειτουργικότητα του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα και επιδεινώνει την ήδη υπάρχουσα ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, παρότι έχει εξελιχθεί εν σχέσει με την κλασσική ανάταξη με αθρόα κρυσταλλοειδή ή συνδυασμό με συνθετικά κολλοειδή (Siegemund et al 2019).

Η υπερογκαιμία από οιοδήποτε αίτιο, άρα και αυτή κατά την αναζωογόνηση και επαναιμάτωση δύναται να αποδομήσει τον ενδοθηλιακό γλυκοκάλυκα εξ ού και συστήνεται εκτός από τον προστατευτικό αερισμό και το προσεκτικό monitoring χορήγησης υγρών, αλλά και η έρευνα για ένα ακόμη προσφορότερο μέσο (Brettner et al 2017).

Τα πειραματικά μοντέλα αιμορραγίας ή ανάταξης του αιμορραγικού shock έχουν εφαρμοσθεί σε διάφορα μοντέλα ζώων, ποικίλλουν ανάλογα με το είδος του ζώου, αδυνατούν να αναπαράξουν την κλινική πράξη (Tsukamoto et al 2010, Egan & Johnson 2020). Η ανάγκη για εξεύρεση της βέλτιστης επιλογής και εφαρμόσιμης για την ανάταξη της βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης του αιμορραγικού shock έχει

οδηγήσει στο πειραματικό μοντέλα της υποξαιμικής επαναιμάτωσης. Η μείωση της φλεγμονώδους απάντησης και του οξειδωτικού stress, και η βελτίωση της αιμοδυναμικής εικόνας έχουν καταδειχθεί σε διάφορους ιστούς (Douzinas et al 2001a,b, 2003, 2004, 2006, 2007, 2008). Με την εργασία αυτή, η οποία συνιστάται να εφαρμοστεί μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό σε κλινικό επίπεδο με τις απαραίτητες τροποποιήσεις, μελετάται η ελαχιστοποίηση της βλάβης του πνευμονικού ιστού κατά την ανάταξη της καταπληξίας με εφαρμογή υποξαιμικής επαναιμάτωσης.

Στο γενικό μέρος της μελέτης αναφέρονται οι μηχανισμοί της αιμορραγικής καταπληξίας, η παθογένεση του συνδρόμου της πολυοργανικής ανεπάρκειας και η οξεία πνευμονική βλάβη με έμφαση στην οξειδωτική βλάβη. Τέλος περιγράφονται οι τροποί ανάταξης της αιμορραγικής καταπληξίας όπως αναδεικνύονται στην βιβλιογραφία μέχρι σήμερα.

1.2. ΟΡΙΣΜΟΙ

Ο σύγχρονος ορισμός του shock είναι η πλημμελής ή ακατάλληλη ιστική αιμάτωση που συνεπάγεται μειωμένη απόδοση οξυγόνου στους ιστούς, παθολογικό κυτταρικό μεταβολισμό (μετατροπή του αερόβιου σε αναερόβιο), και ιστική βλάβη, η οποία άνευ αντιμετώπισης είναι μη αναστρέψιμη καταλήγοντας σε θάνατο εκ πολυοργανικής ανεπάρκειας (Cairns 2001, Standl et al 2018, Angus & van der Poll 2013, Singer et al 2016).

Οι κατηγορίες/μορφές του shock είναι : το υποογκαιμικό (αιμορραγικό ή μη αιμορραγικό), το κατανομής, το καρδιογενές, και το αποφρακτικό. Στην κλινική πράξη κυριαρχεί συνδυασμός των ανωτέρω, θέτοντας την ανάγκη για συνεχιζόμενη επαγρύπνηση για εκπαίδευση στις διαγνωστικές μεθόδους, στην παρακολούθηση και στην θεραπεία (Standl et al 2018, Vincent 2013).

1.3. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Οι θάνατοι εξ αιμορραγίας αποτελούν παγκόσμιο πρόβλημα, αλλά δεν μπορεί να υπάρξει πρόβλεψη αριθμού. Η εξέλιξη της παθοφυσιολογίας του αιμορραγικού shock αποτυπώνεται στα δεδομένα της θνησιμότητας. Διακρίνεται σε άμεσο θάνατο, θάνατο από μη αναστρέψιμο shock ανθεκτικό στις προσπάθειες αναζωογόνησης ή και υποξεία δυσλειτουργία πολλών οργάνων ασθενών που επιβιώνουν των χειρουργικών επεμβάσεων και καταλήγουν αργότερα από ανεπάρκεια πολλών οργάνων στην ΜΕΘ (Bjerkvig et al 2016, Cannon 2018).

Ενδεικτικώς αναφέρεται ότι στις ΗΠΑ έχουν καταγραφεί 60.000/έτος στις ΗΠΑ, εκτιμώμενοι 1,9 εκατομύρια/έτος παγκοσμίως με το 1,5 εξ αυτών να αφορά τραύμα σε νέο πληθυσμό (Cannon 2018) και 9% θνητότητα παγκοσμίως (Gulati 2016). Το 40-80% των θανάτων λόγω τραύματος συνδέεται με το αιμορραγικό shock, λαμβάνει χώρα τις πρώτες έξι ώρες. Θεωρείται ότι θα μπορούσε να αποφευχθεί έως το 50% (Mizobata 2017, Tores-Fihlo 2018).

Σε πολεμική περίοδο (Ιράκ 2007-2008) στην οξεία φάση ήταν η πλειονότητα των θανάτων (77%) και 10% στις 10 ημέρες μετά την εισαγωγή. Από τους μη αναμενόμενους θανάτους η αιμορραγία ευθυνόταν κατά (64%), η πολυοργανική δυσπραγία (MODS) κατά (20%), η υποξεία κατά (13%), και η κρανιοεγκεφαλική κατά (3%). Οι ασθενείς θεωρούντο αντιμετωπίσιμοι συμφώνως με την κλινική βαθμολόγηση (Injury severity scores/ISS) (Thompson et al 2019).

1.4. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΛΗΞΙΑΣ

Όσον αφορά το αιμορραγικό shock (hemorrhagic shock (HS) αποτελεί το συχνότερο αίτιο υπογκαιμίας της ειρηνικής περιόδου (πολυτραυματία, καρδιοχειρουργική, μεταμοσχεύσεις, περιεγχειρητική περίοδος, αιμορραγία

γαστρεντερικού, ανευρύσματα, μαιευτική αιμορραγία) ή πολεμικής περιόδου. Διακρίνεται σε 4 στάδια αναλόγως με την απώλεια αίματος εκπεφρασθείσα σε ποσοστό κυκλοφορούντος όγκου και ποσότητα για άνδρα 70kg: 1) σε έως 15% ήτοι 750ml, 2) 15-30% και >750ml, 3) 30-40% και 1500-2000ml, 4) απώλεια >40% και >2000ml (πίνακας 1), με υπολογιζόμενο όγκο αίματος 70ml/kg για άρρενα και 65ml/kg για θήλυ (κανόνας Gicher's). Ο εκτιμώμενος όγκος απωλεσθέντος αίματος στην κλινική πράξη είναι συχνά ιδιαίτερος δύσκολο να προσδιοριστεί. Μαζική αιμορραγία θεωρείται η απώλεια ολοκλήρου του κυκλοφορούντος όγκου μέσα σε 24ώρες, ή του μισού όγκου σε ένα τρίωρο (Gutierrez et al 2004, Standl et al 2018, Wilkinson et al 2020).

1.5. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΛΗΞΙΑΣ

Η παθοφυσιολογία του αιμορραγικού shock έχει ευρέως μελετηθεί (Lomas-Niera et al 2005) σε διάφορα μοντέλα ζώων και με αποτελέσματα που ποικίλλουν ανάλογα με το είδος του ζώου (Van Der Linden 1998), γι αυτό και η ερμηνεία τους είναι δύσκολη (Lomas-Niera et al 2005, Cooke et al 2004, Egan & Johnson 2020) αλλά και τα δεδομένα τους δεν εφαρμόζονται απόλυτα στον άνθρωπο και κυρίως στον ασθενή που βρίσκεται σε μη ανατάξιμη φάση shock (Cooke et al 2004). Κοινός τόπος είναι ότι πρόκειται τόσο για τοπικό όσο και συστηματικό φαινόμενο με γενικευμένη φλεγμονώδη αντίδραση του οργανισμού από καταρρακτώδη ενεργοποίηση μεσολαβητών με ιστικές και κυτταρικές βλάβες σε απομακρυσμένα όργανα και συστήματα (Cannon 2018).

Ο Guyton περιέγραψε τρεις διαδοχικές φάσεις στην παθοφυσιολογία του shock (Hall 2011):

α) Φάση του αντιρροπούμενου shock (non-progressive stage/ compensated) όπου η πλημμελής αιμάτωση των ιστών αντιρροπείται από κυκλοφορικούς μηχανισμούς, χωρίς μέγιστη αγωγή

β) Φάση μη αντιρροπούμενου shock (progressive) που αντιστοιχεί στην εμφάνιση ενός φαύλου κύκλου με σταδιακή επιδείνωση που καταλήγει στο θάνατο, με θνητότητα 30-60% αν δεν εφαρμοσθεί κάποια θεραπεία και τέλος,

γ) Φάση μη αναστρέψιμου shock (irreversible stage), που αντιστοιχεί σε ένα σημείο «μη επιστροφής», όπου κάθε θεραπευτική προσπάθεια δεν έχει κανένα αποτέλεσμα

1.5.1.ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

1.5.1.1.ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ

Η εκσεσημασμένη απώλεια αίματος κατά την καταπληξία οδηγεί σε ιστική υποάρδευση και υποξία σε κυτταρικό επίπεδο και εξ αυτών συστηματικές, ιστικές και κυτταρικές αντιδράσεις. Η ισχαιμία μπορεί να είναι απόλυτη ισχαιμία (μή ροής) όσο ή σχετική (χαμηλής ροής). Η παράταση της ισχαιμίας προκαλεί διάνοιξη φυσιολογικών αγγειακών σφιγκτήρων μέσω αγγειοδραστικών παραγόντων και έτσι η ροή αίματος βαίνει εξαρτώμενη μόνο από την πίεση διηθήσεως (Gutierrez et al 2004, Hall 2011).

Πυροδοτούνται ποικίλοι αντιρροπιστικοί μηχανισμοί προκειμένου να διατηρηθεί η ιστική άρδευση (ροή και οξυγόνωση). Επιγραμματικώς 1) οι άμεσοι αντιρροπιστικοί μηχανισμοί (30 sec- <10min) περιλαμβάνουν την δράση των κατεχολαμινών (α-αγωνιστές για περιφερική αγγειοσύσπαση και β1- αγωνιστές για αύξηση καρδιακού ρυθμού και συσταλτικότητας μέσω τασεουποδοχέων λόγω μειωμένης πίεσεως στην αορτή- και χημειουποδοχέων λόγω μειωμένης μεταφοράς οξυγόνου), της κορτιζόλης (παρέχει γλυκόζη ως ενεργειακό υπόστρωμα) και την διατριχοειδική μετακίνηση υγρών, συμπεριλαμβανομένων πρωτεϊνών αποθηκευμένων στο ήπαρ και το μεσεντέριο, 2) οι ενδιάμεσοι (10-60min) την δράση αγγειοτενσίνης II και βαζοπρεσίνης και 3) οι χρόνιοι (1-48hs) την δράση της αλδοστερόνης και της βαζοπρεσίνης /αντιδιουρητικής ορμόνης.

Συνοπτικώς, η υπεραντιδραστικότητα του συμπαθητικού αυξάνει τις πιέσεις πληρώσεως, και προκαλεί θετική ινότροπη και χρονότροπη δράση. Ο καρδιακός ρυθμός (heart rate /HR) και οι περιφερικές συστηματικές αντιστάσεις (ανά όργανο ποικίλλουν) αυξάνονται στην προσπάθεια βελτίωσης του όγκου παλμού (stroke volume/SV), της φλεβικής επιστροφής και τελικώς της βελτίωσης μέσω της καρδιακής παροχής (οριζομένη από τον τύπο $CO=HR \times SV$) της αιμάτωσης των ιστών. Το αίμα ανακατανέμεται προς εγκέφαλο, καρδιά, πνεύμονες (Hall 2011, Wilkinson et al 2020). Επιστρατεύονται τριχοειδή σε όργανα και ιστούς, ενώ ο αριθμός των ανοικτών αυξάνεται αναλογικώς με το βαθμό της ιστικής υποξίας, ώστε να επιτυγχάνεται ροή προς ιστούς, ακόμη και σε χαμηλή τριχοειδική τάση O_2 (Gutierrez et al 2004, Cooke et al 2004, Traber et al 2004, Torres-Fihlo 2018). Οι νεφροί συνεισφέρουν στην αύξηση της φλεβικής επιστροφής με κατακράτηση νατρίου και ύδατος. Εξ αυτών των δυνατοτήτων του οργανισμού δύναται απώλεια έως και 30% αίματος να υποεκτιμηθεί κλινικά, ενώ η βλάβη στην μικροκυκλοφορία εξελίσσεται (Hall 2011, Wilkinson et al 2020). Πάντως η περιφερική λίμναση αίματος λόγω αγγειοδιαστολής, η αύξηση της διαβατότητας των τριχοειδών, η μεταβολική οξέωση, ο μειωμένος χρόνος κυκλοφορίας, η μείωση της καρδιακής παροχής, οι διαταραχές πήκτικότητας (υπερπηκτικότητα) και οι μικροθρομβώσεις μειώνουν ακόμη περισσότερο τη φλεβική επιστροφή και ευνοούν τη μετάβαση του shock σε μη αναστρέψιμη μορφή (κατηγορία αιμορραγίας IV, σχήμα 1) .

Για την κατηγορία αιμορραγίας I και εν μέρει για την II (Σχήμα 1) ο οργανισμός κατορθώνει να αντirroπεί την πτώση της καρδιακής παροχής, αλλά χάνει την ικανότητα στις III και IV (Gutierrez et al 2004, Torres-Fihlo 2018).

Η εκσεσημασμένη απώλεια αίματος κατά την καταπληξία επίσης πυροδοτεί ισχυρή οξεία αντίδραση του πήκτικού μηχανισμού (acute traumatic coagulopathy/ ATC) χαρακτηριζομένη από συνδυασμό ινωδόλυσης και **αντιπηξίας** μέσω της οδού της πρωτεΐνης C, απελευθέρωσης t-PA, ταυτόχρονα με δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων (Bjerkvig et al 2016, Cannon 2018), με κοινό τόπο πρόκλησης του φαινομένου την υποάρδευση και το αυξανόμενο χρέος O_2 . Το φαινόμενο άρχεται προ ακόμη της αναζωογόνησης με υγρά (Bjerkvig et al 2016).

1.5.1.2.1. ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ

Σε κυτταρικό επίπεδο στα στάδια III και IV ο μεταβολισμός μετατρέπεται σε αναερόβιο. Οι απαιτήσεις σε ATP βαίνουν διογκούμενες εν σχέσει με την προσφορά. Η μεταφορά O_2 (Oxygen Delivery- DO_2) υπολογίζεται από τον τύπο

$DO_2 = CaO_2 \times CO$, όπου CaO_2 (arterial oxygen content περιεκτικότητα αρτηριακού αίματος σε O_2).

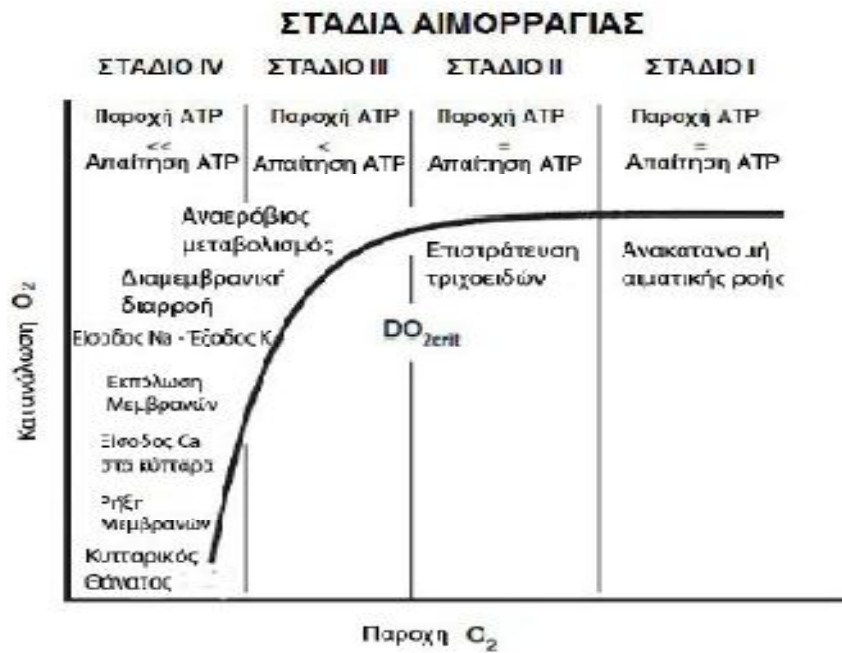
Η CaO_2 υπολογίζεται από τον τύπο $CaO_2 = (SpO_2 \times 1.34 \times Hb) + (0.003 \times PaO_2)$, όπου SpO_2 ο κορεσμός της Hb και PaO_2 η μερική πίεση του O_2 στο αίμα.

Η κατανάλωση O_2 (Oxygen Consumption- VO_2) υπολογίζεται ως

$VO_2 = CO \times (CaO_2 - CmvO_2)$ εξίσωση του Fick: όπου $CmvO_2$ είναι η περιεκτικότητα σε O_2 του μικτού φλεβικού.

Το ποσοστό αποδέσμευσης του O_2 στους ιστούς (O_2 extraction ratio) υπολογίζεται ως $O_2(ER) = (CaO_2 - CmvO_2) / CaO_2$ (Gutierrez et al 2004).

Η σχέση DO_2 / VO_2 ακολουθεί διφασικό πρότυπο. Στον αερόβιο μεταβολισμό η VO_2 είναι ανεξάρτητη από την DO_2 , είναι ανάλογη του μεταβολικού ρυθμού και ποικίλλει αναλόγως με τις ενεργειακές απαιτήσεις του οργανισμού. Το σημείο όπου το O_2 -ER δεν είναι αρκετό πλέον για τις ιστικές ανάγκες η DO_2 αγγίζει το κρίσιμο σημείο, ο μεταβολισμός πλέον είναι αναερόβιος, οπότε η VO_2 εξαρτάται ευθέως από την DO_2 . Προοδευτικά ισχαιμούν όλο και περισσότεροι ιστοί, και έτσι το αρχικό έλλειμμα οξυγόνου (O_2 deficit) συσσωρεύεται, δεν διορθώνεται και γίνεται χρέος O_2 (debt), το οποίο και αποτελεί ποσοτικό δείκτη της εξέλιξης του shock (Bjerkvig et al 2016).



Σχήμα 1 Μεταβολές της κατανάλωσης οξυγόνου (oxygen consumption) σε σχέση με την μεταφορά οξυγόνου (oxygen delivery). Παρουσιάζονται οι υποθετικές σχέσεις αυτών των παραμέτρων με τα στάδια της αιμορραγίας καθώς και οι μεταβολές στην ακεραιότητα της κυτταρικής μεμβράνης. (Πηγή: [Gutierrez et al 2004](#))

1.5.3.2.1.1. ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Υπό Κ.Σ το Ca^{2+} ελέγχει και ρυθμίζει τον αερόβιο μεταβολισμό μέσα στο μιτοχόνδριο όπου και παράγονται 38 μόρια ATP ([Jassem et al 2002](#)). Περίπου το 90% του O_2 ανάγεται σε H_2O στο επίπεδο του συμπλέγματος IV (COX), 2-4% του O_2 ανάγεται σε υπεροξειδίο (O_2^{\bullet}), που μετατρέπεται στο υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) από την δισμουτάση του υπεροξειδίου του μαγγανίου (MnSOD) και ανάγεται περαιτέρω σε ύδωρ από την υπεροξειδάση του γλουταθείου (GSHpx) με την γλουταθειόνη (GSH) ως υπόστρωμα, για να παράξει οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG). Η αντίδραση συνδυάζεται με την αναγωγή της GSSG από την NADPH-εξαρτώμενη αναγωγή για να σχηματίσει GSH και NADP ([Jassem et al 2002](#)).

Στον αναερόβιο μεταβολισμό του ισχαιμούντος κυττάρου παράγονται 2 μόρια

ΑΤΡ και πυρουβικό οξύ, το οποίο αδυνατεί να εισέλθει στον κύκλο του κιτρικού οξέος (αερόβιος γλυκόλυση) και μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ. Λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης του παραγόμενου ενδοκυτταρίου **γαλακτικού** οξέος και παραγωγής και συγκέντρωσης λοιπών οξέων το pH του κυττάρου γίνεται οξεωτικό (**σχήμα 2(A)**). Κατά την επαναιμάτωση αυτή η αύξηση του γαλακτικού οξέος συνεχίζεται και με τρόπο ανάλογο του βαθμού ισχαιμίας (**Adeva-Andany et al 2014**). Επίσης κατά την ισχαιμία αυξάνονται ιδιαιτέρως τα επίπεδα σουκινικού οξέος, το οποίο θα προκαλέσει βλάβη κατά την επαναιμάτωση μέσω της οξειδωσης του (**Sauia et al 2017, Cowled & Fitridge 2011**).

Στην παρατεταμένη ισχαιμία παραβλάπτονται οι ενεργειακές δεξαμενές του κυττάρου, δηλαδή -του ΑΤΡ και της φωσφοκρεατίνης. Η κυτταρική ισχαιμία (**σχήμα 2, 3α 3β**) οδηγεί στη διάσπαση του ΑΤΡ και την παραγωγή υποξανθίνης με ταχεία εξάντληση των **αποθεμάτων ΑΤΡ και ΑΔΡ** (**Kosieradzki & Rowiński, 2008**) και **συνάθροιση ΑΜΡ** (**Helling et al 2005**). Η δεϋδρογενάση της ξανθίνης μετατρέπεται σε ξανθινο-οξειδάση. Σε αντίθεση με την δεϋδρογενάση, που χρησιμοποιεί (NAD) ως υπόστρωμά της, η οξειδάση χρησιμοποιεί το οξυγόνο. Έτσι κατά την διάρκεια της ισχαιμίας, δεν καταλύεται η μετατροπή της υποξανθίνης σε ξανθίνη, αλλά αντιθέτως παρατηρείται συγκέντρωση εκσεσημασμένων επιπέδων **υποξανθίνης**, η οποία στην φάση της επαναιμάτωσης οδηγεί με την βοήθεια των ιόντων Ca^{++} και του ενζύμου οξειδάση της ξανθίνης στην παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (**Welbourn et al 1997, Cowled & Fitridge 2011**).

Επιπροσθέτως η παρατηρούμενη **πτώση των επιπέδων του ΑΤΡ** προέρχεται:

1. από την αναερόβια γλυκόλυση και **2.** από την κατανάλωση του ενεργειακού φορτίου της φωσφοκρεατίνης (PCr), η οποία διασπάται σε ΑΤΡ και κρεατίνη:



Η κυτταρική μεμβράνη είναι αδιαπέραστη για τα ΑΤΡ/ΑΔΡ/ΑΜΡ ως οικονομία του κυττάρου, ώστε να μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν. Η αδενοσίνη όμως δεν δύναται να διαπεράσει την κυτταρική μεμβράνη, με συνέπεια διαχεομένη πλέον εξωκυτταρίως να χρησιμοποιεί το O_2 ως υπόστρωμα αποστερώντας το από τα μιτοχόνδρια, και επιδεινώνοντας τοιούτοτρόπως το χρέος O_2 και στην φάση της επαναιμάτωσης (**Keller et al 2003, Kosieradzki, & Rowiński 2008**).

Στην βλάβη της ισχαιμίας επίσης συμμετέχει και η αδρανοποίηση των O₂-ευαίσθητων ενζύμων της προπυλ-υδρολάσης, τα οποία εκκινούν τον καταρράκτη της μεταγραφής για τον NF-κB και τον HIF-1 (Naito et al 2020).

Η έλλειψη ATP διαταράσσει και την μεμβρανική λειτουργία λόγω της επίδρασης της:

1. στο δυναμικό και **2.** στην λειτουργία των αντλιών ιόντων (αντλία Na⁺/K⁺-ATPάσης, αντλία Na⁺/Ca²⁺, κυτταροπλασματικής ATP-εξαρτώμενης αντλίας-Ca²⁺) σε οξειωτικό πλέον περιβάλλον. Αποτέλεσμα των διεργασιών είναι η καταστροφή δομών όπως των μιτοχονδρίων (οίδημα και αποικοδόμηση), η ρήξη λυσοσωμάτων ως πρόδρομο κυτταρικού θανάτου (Eltzchig & Eckle 2011), η συσσώρευση Ca²⁺ (Kalogeris et al 2017).

Η συσσώρευση αυτή εκκινεί :

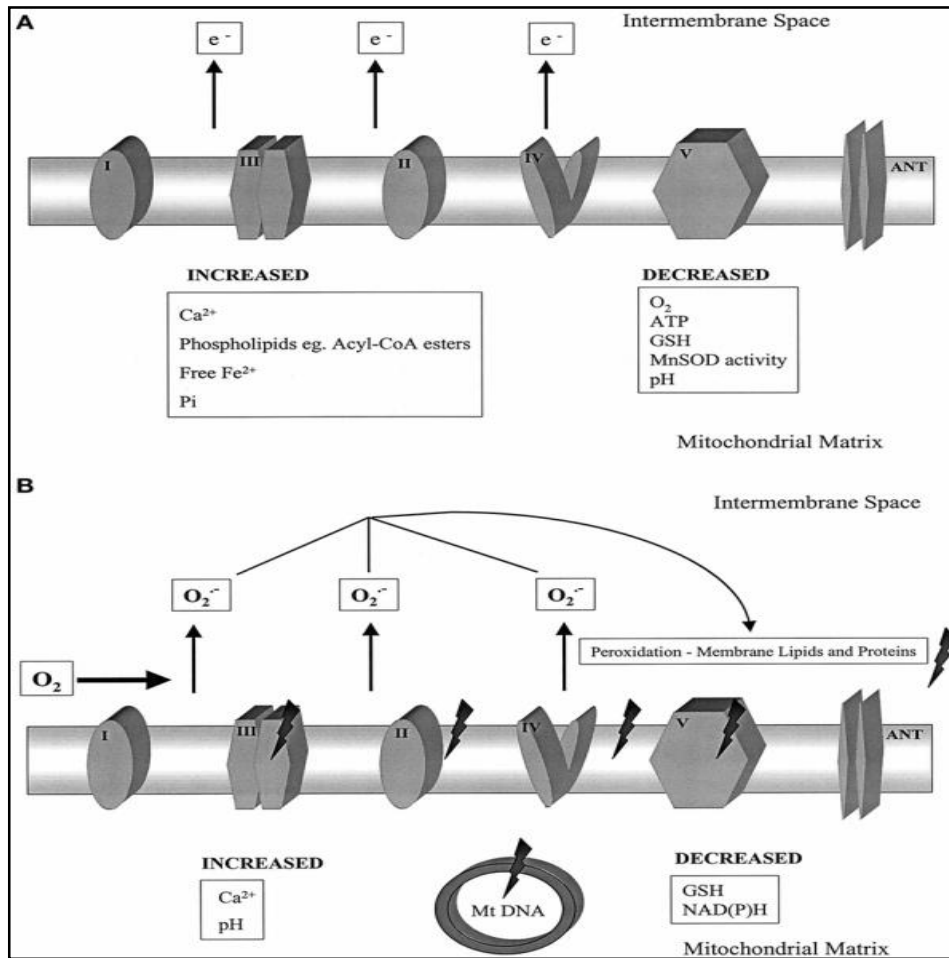
1.την ενεργοποίηση των εξαρτώμενων από το Ca⁺⁺ πρωτεασών (καλπαΐνη) καθώς και φωσφολιπασών που θα προσβάλλουν τις δομές κατά την επαναιμάτωση, (Cowled & Fitridge 2011)

2.την παραγωγή δραστικών μορφών O₂ και N (reactive O₂ species/reactive nitrogen species/ROS/RNS) στα μιτοχόνδρια, (Jassem et al 2002),

3. την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A₂, η οποία επάγει την παραγωγή του αραχιδονικού οξέος ως πρόδρομου για την παραγωγή των εικοσανοϊδών (όπως θρομβοξάνες, λευκοτριένια, προσταγλανδίνες, προστακυκλίνη) και

4.ενεργοποιεί την αποπτωτική διαδικασία (Van der Kaaj et al 2005, Naito et al 2020).

Ο μηχανισμός ενεργοποιείται άμεσα μετά την αιμορραγική καταπληξία αλλά και την λοίμωξη, και έχει και συστηματικές αγγειακές επιδράσεις (Goris 2000, Fan & Fan 2018). Τα αγγειοδιασταλτικά (προστακυκλίνη-προσταγλανδίνη/I-2) και τα αγγειοσυσπαστικά προστανοειδή (θρομβοξάνη-A₂/thromboxane A₂/TxA₂) εκλύονται μαζικά από τις κυτταρικές μεμβράνες, συνεχίζοντας την βλάβη στην επαναιμάτωση (Smail 2002).



Σχήμα 2 Σχηματικό διάγραμμα των βιοχημικών αλλαγών στα μιτοχόνδρια κατά τη διάρκεια της **Ισχαιμίας/ Επαναιμάτωσης**

A. Ισχαιμία. Ελλείψη O_2 , τα συμπλέγματα της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων μειώνονται ιδιαίτερα με την απελευθέρωση των ελεύθερων ηλεκτρονίων. Μειώνεται το ADP στο κυτταρόπλασμα και η παραγωγή του ATP από το σύμπλεγμα V στα μιτοχόνδρια. Μειώνεται η αντιοξειδωτική GSH, η δραστηριότητα της MnSOD και το pH. Αυξάνονται το Ca^{2+} , τα φωσφολιπίδια, ο ελεύθερος σίδηρος(Fe^{II}) και ο ελεύθερος ανόργανος φωσφόρος (P).

B. Επαναιμάτωση. Έκρηξη παραγωγής $O_2^{\cdot -}$ εμφανίζεται στα μιτοχόνδρια ως αποτέλεσμα της επανεισαγωγής του O_2 που ανάγεται άμεσα από τα ηλεκτρόνια της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Τα ROS προκαλούν υπεροξειδωση βλάπτοντας τις τοπικές δομές όπως τα λιπίδια μεμβρανών, τις πρωτεΐνες της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, και το mtDNA. Επίσης αυξάνονται περαιτέρω τα Ca^{2+} στο matrix/μεσοκυττάρια ουσία και το pH. Η κατά την ισχαιμία μειωθείσα GSH μειώνει τα επίπεδα των υποστρωμάτων που απαιτούνται για την αντιοξειδωτική δραστηριότητα της GSHpx (Πηγή: Jassem 2002).

1.5.3.2.1.2. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ROS

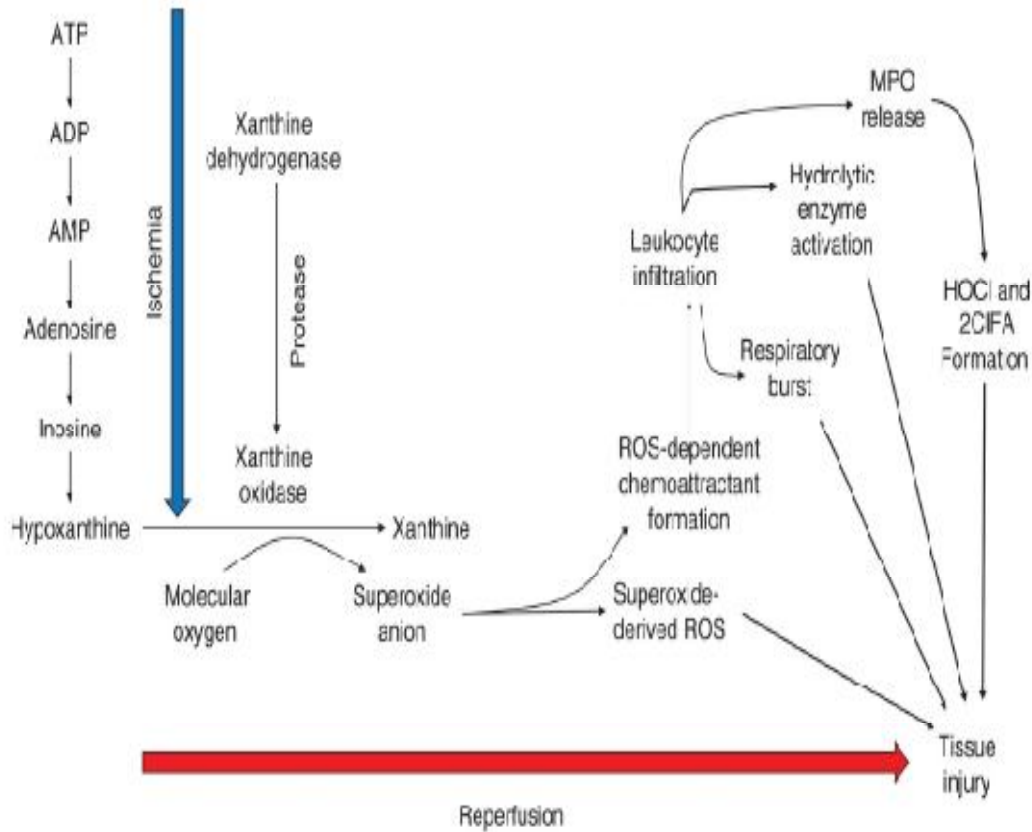
Η παραγωγή των ROS λαμβάνει χώρα και κατά την ισχαιμία και κατά την επαναιμάτωση του αιμορραγικού shock μέσω διαφόρων ενζυματικών οδών και σε διάφορα κύτταρα, προκαλώντας βλάβη όλων των δομών μέσω του καταρράκτη του

οξειδωτικού stress. Η βλάβη προκαλείται λόγω της αυξημένης παραγωγής και συσσώρευσης των ROS ή της ανεπάρκειας των αντιοξειδωτικών μηχανισμών (σχήμα 2). Στα σχήματα 3 και 4 περιγράφεται η γένεση/παραγωγή των ROS/RNS, οι οποίες λαμβάνουν διάφορες μορφές (ελεύθερες ρίζες, ιόντα ή συνδυασμό ή μόρια) με τις ρίζες να είναι πιο δραστικές αλλά κ βραχύβιες (Halladin 2015, Kalogeris et al 2017, Yu et al 2019). Τα μιτοχόνδρια παράγουν ROS κατά τη διάρκεια της υποξίας (Raha&Robinson 2000).

Στην ισχαιμία, υπάρχει μια αύξηση παραγωγής $O_2^{\cdot-}$ λόγω της διαρροής των ηλεκτρονίων από την κατεστραμμένη αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, την μείωση της GSH, και την μείωση της δραστηριότητας της MnSOD (σχήμα 2,4).

Οι ROS (H_2O_2 , ανιόν υπεροξειδίου) παράγονται μέσω της NADPH οξειδάσης, που βρίσκεται πάνω στις μεμβράνες των ουδετεροφίλων και των μονοκυττάρων/μακροφάγων. Το $O_2^{\cdot-}$ αντιδρά με τις πρωτείνες σιδήρου κ θείου που ευρίσκονται σε αφθονία.

Ανάμεσα στις διάφορες ROS, το H_2O_2 έχει την απαιτούμενη σταθερότητα για την εγκαθίδρυση σταθερών συγκεντρώσεων *in vivo*, τόσο τοπικά όσο και σε όργανα απομακρυσμένα από την θέση παραγωγής του. Ακόμη διαθέτει μικρό μέγεθος και έλλειψη φορτίου ώστε δύναται να διαχέεται μέσω των κυτταρικών μεμβρανών. Το $O_2^{\cdot-}$ κατέχει υψηλή χημική αντιδραστικότητα, εξαιτίας του μονήρους ηλεκτρονίου του (\cdot) και οξειδώνει πάραυτα κάθε παρακείμενο βιολογικό μόριο, καταστρέφοντας το (Fink 2002, Jairam 2012).

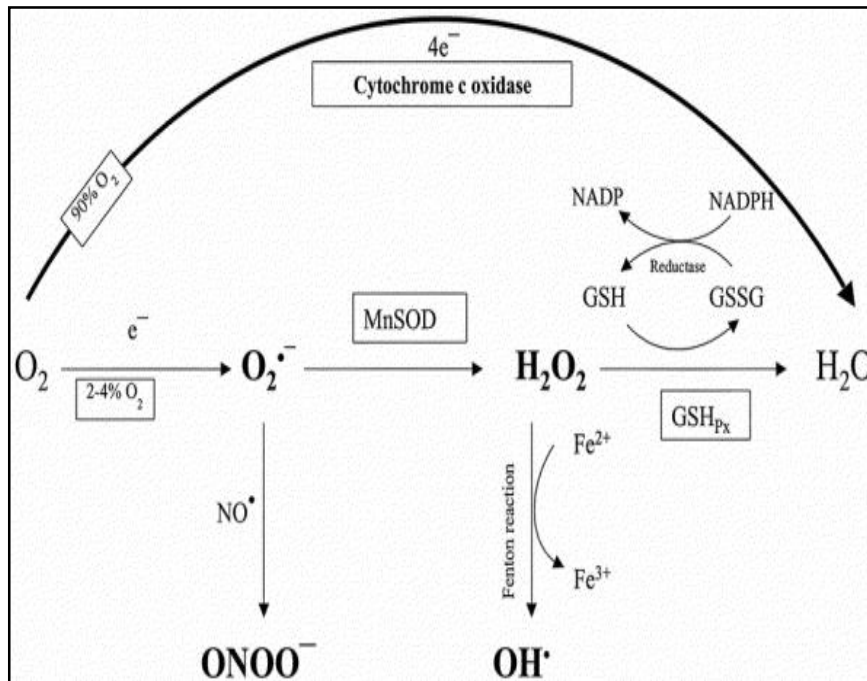


Σχήμα 3 : Καταρράκτης αντιδράσεων ισχαιμίας-επαναιμάτωσης

Ισχαιμία: ο μεταβολισμός γίνεται αναερόβιος, το pH οξεωτικό, οι ΑΤΡάσες αδρανοποιούνται, και υπερσυσσωρεύεται Ca^{2+} ενδοκυτταρίως. Η δευδρογενάση της ξανθίνης μετατρέπεται σε οξειδάση (XO), ταυτοχρόνως με την συσσώρευση της υποξανθίνης.

Επαναιμάτωση: Αποκαθίστα η μεταφορά O_2 κ' υποστρωμάτων και το εξωκυττάριο pH εκ της έκπλυσης συσσωρευμένου H^+ (παράδοξο του pH), με αρνητική συνέπεια την αύξηση ιόντων Ca^{2+} και την αύξηση της προσφοράς O_2 (παράδοξο του Ca^{2+}). Η επανείσοδος του O_2 μέσω της XO παράγει ROS (παράδοξο του O_2).

Τα ROS καταστρέφουν βιομόρια, ευοδώνουν την διάνοιξη μιτοχονδριακών διαύλων (mPTPs) και ενεργοποιούν ο καταρράκτης της φλεγμονής και της πήξεως, με αποτέλεσμα κυτταρική βλάβη. Επιπροσθέτως απελευθερώνονται DAMPs και άλλοι προφλεγμονώδεις και θρομβογενείς μεσολαβητές. Η εισοδος κυττάρων της ανοσιακής απόκρισης στους ισχαιμικούς ιστούς προκαλεί βλάβη μέσω της NADPH οξειδάσης, απελευθερώνει υδρολυτικά ένζυμα και παράγει -μέσω της μυελοπεροξειδάσης (MPO)- υποχλωριώδες οξύ και N-γλωραμίνες. (Kalogeris et al 2017)



Σχήμα 4. Η παραγωγή των ROS και η αντιοξειδωτική δραστηριότητα στα μιτοχόνδρια μετά από την ισχαιμία .

Υπό Κ.Σ. το μεγαλύτερο μέρος του O₂ μειώνεται σε ύδωρ στο επίπεδο του συμπλέγματος IV (COX). Δύο έως τέσσερα τοις εκατό του O₂ μειώνονται από τα ενιαία ηλεκτρόνια που διαρρέουν από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων διαμορφώνοντας το ανιόν υπεροξειδίου (O₂^{•-}). Αυτό μετατρέπεται στο (H₂O₂) από δισμουτάσες των υπεροξειδίων (MnSOD) και μειώνεται περαιτέρω σε H₂O από την περοξειδάση του γλουταθείου (GSHpx), με το γλουταθείο (GSH) ως υπόστρωμα, για να παράξει το οξειδωμένο γλουταθείο (GSSG). Αυτή η αντίδραση συνδυάζεται με την μείωση GSSG από την εξαρτώμενη από την NADPH αναγωγή, για να διαμορφώσει την GSH και το οξειδωμένο NADP.

Μετά από την ισχαιμία και επαναιμάτωση, υπάρχει μια αύξηση στην παραγωγή O₂^{•-} λόγω της διαρροής των ηλεκτρονίων από την κατεστραμμένη αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, την μείωση GSH, και την μείωση της δραστηριότητας της MnSOD. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε περισσότερο O₂^{•-} που είναι διαθέσιμο για να αντιδράσει με το νιτρικό οξύ (NO) για να διαμορφώσει το κυτταροτοξικό ανιόν του υπεροξυνιτρίδιου (ONOO⁻). Το H₂O₂ μπορεί να μειωθεί στην ιδιαίτερα δραστική ρίζα του υδροξυλίου (OH[•]) από τα ασταθή μέταλλα όπως Fe²⁺ που συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της ισχαιμικής περιόδου (Fenton reaction) (Πηγή: [Jassem et al 2002](#))

1.5.3.2.1.3. ΜΟΡΙΑ ΒΛΑΒΗΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΙΣ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΔΟΜΕΣ - ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΕΣ ΟΔΟΙ

Στην φάση της ισχαιμίας απελευθερώνονται τμήματα μιτοχονδριακού DNA, φορμυλπεπτίδια και άλλα μόρια βλάβης (DAMPs και PAMPs) ([Cannon 2018](#)). Τα φορμυλπεπτίδια αποτελούν το ακροτελεύτιο NH₂ της μιτοχονδριακής NADPH

υποομάδας 6(ND6), το οποίο στην φυσιολογική κυκλοφορία έχει ελάχιστη συγκέντρωση, ενώ στο τραυματικό αιμορραγικό shock ανιχνεύεται ισχυρά. Το μιτοχondριακό φορμυλπεπτίδιο(F-MIT) ευθύνεται για την αγγειοδιαστολή του αρτηριακού σκέλους (Gulati 2016).

Τα DAMPs (Damage-associated molecular pattern molecule/ τραυματισμένα κύτταρα ή εξωκυτταρικά μόρια του οργανισμού σχετιζόμενα με την βλάβη) ή αλαρμίνες, και τα PAMPs (pathogen-associated molecular patterns/ πρωτεΐνες των παθογόνων σχετιζόμενες με την βλάβη) επάγουν την αντιγονο-ανεξάρτητη διαδικασία ωρίμανσης των δενδριτικών κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά συνδέουν την εγγενή με την επίκτητη ανοσία και η διαδικασία που εκκινείται από την ισχαιμία συνεχίζει στην επαναιμάτωση (Cowled & Fitridge, Naito et al 2020).

Η αναγνώριση από την **εγγενή και επίκτητη ανοσία** γίνεται μέσω υποδοχέων toll-like (toll-like receptors /TLRs) (Suaia et al 2017). Η σύνθεση mRNA μειώνεται αλλά η μεταγραφή γονιδίων που ευοδώνουν την παραγωγή ATP και την μεταφορά O₂ αυξάνεται. Ενεργοποιούνται γονίδια που σχετίζονται με την κυτταρική επιβίωση (Liu et al 2004), μεταγραφικές οδοί (NF-κB, activating protein-1/AP-1, vascular endothelial growth factor/VEGF, HIF-1, cyclooxygenase-2/COX-2) και προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως TNFα, IL-1β, IL-6 και IL-8 (Cowled & Fitridge 2011, Gulati 2016) Περιλαμβάνονται η HMGB-1 (high mobility group box protein-1), οι πρωτεΐνες θερμικού shock (heat-shock proteins/HSP) (Suaia et al 2017) αλλά και το μιτοχondριακό DNA (Haywood-Watson RJ, 2011).

Οι HSP προστατεύουν τις κυτταρικές πρωτεΐνες από αποδιάταξη. Η HMGB1 σχετίζεται με τη σταθεροποίηση των νουκλεϊκών οξέων και τη μεταγραφή των γονιδίων (Suaia et al 2017) και συνδέεται με το SIRS και την δυσλειτουργία και ανεπάρκεια πολλών οργάνων (MODS/MOF).

Σε πειραματικά δεδομένα απεδείχθη ότι ήδη από την φάση της υπογκαιμίας της αιμορραγίας -άρα της ιστικής υποάρδευσης- καταναλώνεται ο παράγων C3, αλλοιώνεται η πρόδρομος πρωτεΐνη του και μειώνονται τα επίπεδα του CH50 (Karasu et al 2019), με την έκπτωση αυτή να συνεχίζεται στην επαναιμάτωση. Υπερεκφράζονται γονίδια της εγγενούς(innate) ανοσίας και καταστέλλεται η έκφραση γονιδίων της επίκτητης (Cannon 2018)

1.5.3.2.1.4. ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟΣ ΓΛΥΚΟΚΑΛΥΚΑΣ

Το ενδοθήλιο έχει έκταση 4.000-7.000 μm^2 για 10^{13} κύτταρα. (Bjervig et al 2016). Το ενδοθήλιο θεωρείται αυτοτελές, μεταβολικό και ενδοκρινές όργανο, που ρυθμίζει την αγγειακή ομοιόσταση, τον αγγειακό τόνο, την φλεγμονώδη και άνοση απάντηση, την νεο-αγγείωση, και την αντίδραση του πηκτικού μηχανισμού. Διαθέτει πλήθος ενζύμων, κυτταρικών υποδοχέων και σηματοδοτικών μορίων, με αγγειοδιασταλτικές, αντιθρομβωτικές και αντιυπερπλαστικές ιδιότητες (NO και προστακυκλίνη/PGI₂), με αγγειοσυσπαστικές ιδιότητες (ενδοθηλίνη/ET-1, αγγειοτενσίνη II/AngII και ROS), με θρομβογενή αποτελέσματα (von Willebrand factor/vWF) και αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου/PAI-1), και αντιπηκτικά αποτελέσματα (ενεργοποιητής πλασμινογόνου/tissue plasminogen activator/tPA). Αλληλεπιδρά με τα δομικά στοιχεία του κυτταρικού τοιχώματος των αγγείων και με όλα τα κυκλοφορούντα κύτταρα του αίματος. (Incalza et al 2018, Bjervig et al 2016, Gulati 2016)

Η απάντηση στην ισχαιμία οδηγεί σε τοπική και συστηματική ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων (Cannon 2018).

Το ενδοθήλιο είναι το πρώτο που ενεργοποιείται από τους προφλεγμονώδεις παράγοντες στην αιμορραγία, το τραύμα, την σήψη, και το σύνδρομο ισχαιμίας-επαναιμάτωσης (I/E), ενώ το δεδομένο αυτό δεν προέρχεται μόνο από πειραματόζωα -όπως είναι η κύρια πηγή δεδομένων-, αλλά και από τραυματίες ασθενείς (van Leeuwen et al 2020). Η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου ορίζεται ως η προφλεγμονώδης και προπηκτική κατάσταση των κυττάρων (Incalza et al 2018) και συνεπάγεται την έναρξη της λειτουργικής και δευτερευόντως της δομικής βλάβης του, ήδη από την φάση της ισχαιμίας (Abassi et al 2020, Astapenko et al 2019). Από πειραματικά δεδομένα έχει βρεθεί ανομοιογένεια του οιδήματος των τριχοειδικών ενδοθηλιακών κυττάρων (Gulati 2016). Την ανθεκτικότητα του στην υποξία αποδεικνύει η πνευμονική κυκλοφορία με PO₂ 40-50mmHg (Karimova and Pinsky 2001, Ten and Pinsky 2002).

Ιδιαίτερο ρόλο τόσο σε Κ.Σ. όσο και σε όλη την βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και στην σήψη και στην πολυοργανική δυσπραγία και ανεπάρκεια έχει η καταστροφή του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα, δηλαδή της πολυσύνθετης στοιβάδος

που καλύπτει την ενδοαυλική επιφάνεια του ενδοθηλίου. Είναι αρνητικά φορτισμένοι, ώστε αρνητικά φορτισμένες πρωτεΐνες -αλβουμίνη- δεν διαπερνούν τον αγγειακό φραγμό (Cantan & Martvn-Loeches 2020). Αποτελείται από θειϊκές γλυκοπρωτεΐνες (θειϊκή ηπαράνη, δερματάνη, χονδροϊτίνη), πρωτεογλυκάνες πυρήνα (οικογένεια της συνδεκάνης) κ' γλυκοζαμινογλυκάνες συνδεδεμένες κατευθείαν με την κυτταροπλασματική μεμβράνη του ενδοθηλιακού κυττάρου(EK) (Astapenko et al 2019).

Η ακεραιότητα του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα (ΕΓΚ) ευθύνεται για:

- α. την ακεραιότητα του αυλού,
- β. την ρύθμιση της αγγειακής διαπερατότητας του ενδοθηλίου, (διακυτταρικές ή παρακυτταρικές συνδέσεις)
- γ. την μετατροπή των μηχανικών δυνάμεων της ροής του αίματος σε βιοχημικά σήματα(παραγωγή NO και κυτταροσκελετική αναδιοργάνωση μέσω της ενδοθηλιακής συνθάσης του NO) πού διαμορφώνουν την μορφολογία και την λειτουργία του ενδοθηλιακού κυττάρου και
- δ. την συμμετοχή στην άνοση απάντηση, και στην αλληλεπίδραση με τις πρωτεΐνες ορού και τα ιόντα νατρίου. (Astapenko et al 2019),
- ε. την συμβολή στην λειτουργία της πήξης με τις θειϊκή ηπαράνη, δερματάνη, χονδροϊτίνη (Schott et al 2016, Becker et al 2015) και κυρίως την συνδεκάνη-1 η οποία σταθεροποιεί την αντιπηκτική ηπαράνη στην επιφάνεια του ενδοθηλιακού κυττάρου (EK), και περιορίζει τις αλληλεπιδράσεις EK με τα άλλα κύτταρα αιμοπετάλια. (Haywood-Watson et al 2011, Teng et al 2012, Alphonsus et al 2014, Astapenko 2019). Με τις γλυκοζαμινογλυκάνες συνδέονται η θρομβίνη, θρομβομοντουλίνη, αντιθρομβίνη III, ινωδογόνο, ινωδονεκτίνη, δισμουτάση του υπεροξειδίου, αλβουμίνη και τα μόρια προσκόλλησης. (Cantan & Martvn-Loeches 2020) Το διάστημα μεταξύ ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα και λοιπού ενδοθηλίου είναι κενό, και αποτρέπει την διαφυγή πρωτεϊνών. Κενά μέσα στα EK είναι οι οδοί από τους οποίες διακινούνται υγρά και πρωτεΐνες (Siegemund et al 2019).

επίδραση της ισχαιμίας στον ενδοθηλιακό γλυκοκάλυκα

Η δομική και λειτουργική αποδόμηση του γλυκοκάλυκα (ΕΓΚ) ως απάντηση σε φλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως κυτταροκίνες και χημειοτακτικές ουσίες

λαμβάνει χώρα σε αρτηριόλια, τριχοειδή και φλεβίδια σε όλους τους ιστούς και οδηγεί σε πολυοργανική ανεπάρκεια μέσω βλάβης στην μικροκυκλοφορία (Abassi et al 2019). Στο πλάσμα ανευρίσκονται αυξημένα τα επίπεδα της συνδεκάνης-1 (SYND-1) και της ηπαράνης (HS) αναλογικώς με τον χρόνο και την βαρύτητα της ισχαιμίας.

Η έκταση της βλάβης του ενδοθηλίου ρυθμίζεται από την έκταση της υποάρδευσης, η οποία εκκινεί καταρράκτη αντιδράσεων που οδηγεί στην τραυματική βλάβη πηκτικότητας (acute traumatic coagulopathy/ATC). Η ATC χαρακτηρίζεται από συνδυασμό ινωδόλυσης και αντιπηκτικής δραστηριότητας μέσω της πρωτεΐνης C. Παρατηρείται και δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων (AMΠ), ενώ η έκταση της υποάρδευσης με το προκληθέν <<χρέος O₂>> θεωρούνται τα κύρια αίτια της ATC και ότι η σημαντική διαταραχή πηκτικότητας συμβαίνει πριν ακόμη την αναζωογόνηση με υγρά (Bjervig et al 2016). Ο πιθανός μηχανισμός για την ATC είναι η δομική βλάβη του ΕΓΚ. Τα υψηλά επίπεδα συνδεκάνης-1 συσχετίζονται με αυξημένα επίπεδα θρομβομοντουλίνης, μειωμένη συγκέντρωση πρωτεΐνης C, αυξημένα επίπεδα VEGF και αποκοκκίωση των σωματιδίων Waber-Palace με απελευθέρωση tPA και αγγειοποιητίνης II. Η συμπαθητική διέγερση προκαλεί ινωδόλυση και η βλάβη επιδεινώνεται στην επαναιμάτωση (Astapenko et al 2019).

Η απελευθέρωση ενδοθηλιακών αυξητικών παραγόντων, όπως η αγγειοποιητίνη I ασκεί προστατευτική δράση στο shock αμβλύνοντας την αύξηση της διαπερατότητας. Στους ίδιους υποδοχείς δρά ο VEGF. Η υπερέκφραση του VEGF λόγω της υποξίας (δράση της HIF-1) είναι αντισταθμιστική, με σκοπό να αυξηθεί η άρδευση σε περιοχές χαμηλής παροχής O₂. Η αγγειοποιητίνη I ευθύνεται για την σταθερότητα των νέων αγγείων, ενώ η II δρά ανταγωνιστικά στην I και επικουρικός στον VEGF και εκκινεί την διαδικασία της απόπτωσης και της βλάβης του φραγμού. Η αγγειογένεση ειδικώς στη φάση της επαναιμάτωσης έχει τον κύριο ρόλο στην φλεγμονή (Gulati 2016).

Η γενικευμένη ισχαιμία όπως στο αιμορραγικό shock χαρακτηρίζεται από γενικευμένη ενδοθηλιακή βλάβη, η οποία μάλιστα συσχετίζεται με τους δείκτες της συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης και της διαταραχής του πηκτικού μηχανισμού (Abassi et al 2020, Astapenko et al 2019). Το ακρωνύμιο SHINE (shock induced endotheliopathy) έχει προταθεί για να περιγράψει την κοινή παθολογία στην βλάβη της I/E, στην σήψη και στην αιμορραγική καταπληξία (Astapenko et al 2019).

1.5.4. ΙΣΤΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ

Μέσα στα πλαίσια της ενδοθηλιακής βλάβης η προ- και η μετά-τριχοειδική αγγειοσύσπαση κατά τη συμπαθητική αδρενεργική απάντηση οδηγεί σε πρόωμη μείωση της άρδευσης της μικροκυκλοφορίας γεγονός που επιπροστίθεται στην υποάρδευση της καταπληξίας.

Παρατηρείται διαφοροποίηση στην απάντηση στην ισχαιμία μεταξύ ιστών (Keller et al 2003) και μεταξύ ατόμων (Kalogeris et al 2017). Κατά την φάση της ισχαιμίας το σκελετικό μυϊκό σύστημα θεωρείται αδρανές διατηρώντας τα ενεργειακά του αποθέματα (Keller et al 2003). Αδυνατεί να μετατρέψει της αφυδρογονάσης της ξανθίνης σε οξειδάση της ξανθίνης Αυτή είναι και μία πιθανή εξήγηση για τις καθυστερημένες βλάβες του εν σχέσει με άλλους ιστούς όπως ο εγκέφαλος (Steinau 1988).

Η έκπτωση της λειτουργίας των οργάνων στόχων (νεφροί, ήπαρ, έντερο, και μύες) άρχεται ταχέως μετά την βλάβη και παραμένει επί μακρόν-παρά την αναζωογόνηση, προδιαθέτοντας σε σήψη κ πολυοργανική ανεπάρκεια στους επιβιώσαντες (Jarrar et al 1999). Σε κατακλυσμιαία αιμορραγία η υποάρδευση στα ζωτικά όργανα, όπως στον εγκέφαλο κ στο μυοκάρδιο εκδηλώνει κλινικά (ανοξία και αρρυθμίες) σημεία εντός λεπτών (Cannon 2018).

Την ιστική ισχαιμία επιδεινώνει η διήθηση των ισχαιμικών ιστών από πολυμορφοπύρηνα, η προσκόλληση ουδετερόφιλων στο ενδοθήλιο των αγγείων συσώρευση αιμοπεταλίων της TxA₂ και η εναπόθεση ουδετεροφίλων στην μικροκυκλοφορία, η αγγειοσύσπαση λείων μυϊκών ινών από τα λευκοτριένια C₄ και D₄ και η χημειοτακτική ικανότητα τους (LTB₄) (Smail 2002).

Η αναζωογόνηση με αθρόα κρυσταλλοειδή ή και σε συνεχιζόμενη αιμορραγία επιδεινώνει την κλινική εικόνα της ιστικής υποάρδευσης με μεταβολικές διαταραχές (υψηλά επίπεδα γαλακτικού και ελλείματος βάσεως, ανόργανων φωσφορικά και ROS) και επιπρόσθετες διαταραχές πηκτικού μηχανισμού υπό τις οποίες επιδεινώνεται περαιτέρω και η καταπληξία (Siegemund 2019). Ο ασθενής εισέρχεται στον φαύλο κύκλο αιμορραγίας-μεταβολικής οξέωσης-υποθερμίας που καταλήγει ή άμεσα σε θάνατο από μη αναστρέψιμο shock ή σε μειωμένη ανοσιακή απόκριση, συστηματική

φλεγμονώδη αντίδραση, σήψη, πολυοργανική ανεπάρκεια και θάνατο (Gulati 2016, Cannon 2018).

Οι επιδράσεις στην μικροκυκλοφορία προκαλούν επιβλαβείς συνέπειες στην μεταφορά οξυγόνου (oxygen delivery DO_2) στους ιστούς κ επομένως στον ιστικό μεταβολισμό και στην συστηματική φλεγμονώδη απάντηση οδηγώντας -ως προαναφέρθη- σε πολυοργανική ανεπάρκεια (Standl et al 2018, Bjerkvig et al 2016).

1.6. ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΤΑΔΙΑ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΛΗΞΙΑΣ

Η κλινική εικόνα των ασθενών εκτός από την συνοδό παθολογία εξαρτάται και από τη βαρύτητα της καταπληξίας, η οποία καθορίζεται από: **1.**το είδος των απωλειών, **2.**τον όγκο των απωλεσθέντων υγρών, **3.**την ταχύτητα και την διάρκεια των απωλειών, **4.**την ηλικία και τις προϋπάρχουσες νόσους, **5.**την επάρκεια, την ταχύτητα και το είδος των θεραπευτικών χειρισμών (Cannon 2018).

Η κλινική εικόνα με σύγχυση, ανησυχία, ταχύπνοια, νηματοειδή σφυγμό, κρύα άκρα και ωχρο ή και με δικτυωτή πελίωση δέρμα πρέπει να θέτει σε εγρήγορση τον θεράποντα, δεδομένου ότι η έγκαιρη διάγνωση του αιμορραγούντος είναι κρίσιμη για την βιωσιμότητα.

Παρακλινίως αναμένεται να διατεθεί υπογλώσσιος μικροσκοπική εξέταση. Εργαστηριακά και ως δείκτες υποάρδευσης μετρώνται το γαλακτικό και το έλλειμμα βάσεως (Siegemund et al 2019) αλλά και η αιμοσφαιρίνη και ο πηκτικός έλεγχος ως προγνωστικά σημεία γιά την μετάγχιση ασθενούς. Επίσης για την εκτίμηση των πηκτικών διαταραχών εκ της αιμορραγίας ή της αναζωογόνησης και της βαρύτητας του shock αξιοποιείται η θρομβοελαστογραφία και η θρομβοελαστομετρία (Cannon 2018, Mizobata 2017).

Κατηγορία	I	II	III	IV
απώλεια αίματος % επί του συνολικού όγκου	<15	15-30	30-40	>40
απώλεια αίματος σε ml	750	>750	1500-2000	>2000
καρδιακή συχνότητα	<100	>100	>120	>140
αρτηριακή πίεση	φυσιολογική	ορθοστατική υπόταση	σημαντικά μειωμένη	ανηλάφητη
πίεση σφυγμού	φυσιολογική	μειωμένη	μειωμένη	μειωμένη
επαναπλήρωση τριχοειδών	φυσιολογική	πιθανόν καθυστερημένη	συνήθως καθυστερημένη	πολύ καθυστερημένη
αναπνευστική συχνότητα	14-20	20-30	30-40	>35
διούρηση (ml/h)	>30	20-30	5-15	ελάχιστη
ΚΝΣ	ελαφρά ανησυχία	μέτρια ανησυχία	ανησυχία, σύγχυση	σύγχυση λήθαργος κόμα

Πίνακας 1 Κλινική Αξιολόγηση της βαρύτητας του αιμορραγικού shock με βάση την αρχική κλινική εμφάνιση του πάσχοντος (υπολογισμένο για άνδρα 70kg, με οξεία απώλεια αίματος) (Πηγή: Gutierrez et al 2004) M=μειωμένη, A=αυξημένη, K=καμμία μεταβολή

1.7. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Στην οξεία φάση της αιμορραγίας η αντιμετώπιση περιλαμβάνει τα εξής: **1)** έγκαιρη διάγνωση δεδομένου ότι 2ώρες είναι ο μέγιστος διάμεσος χρόνος έως το μη αναστρέψιμο shock. Σε τραυματικό αιμορραγικό shock κορμού, ο χρόνος διάγνωσης δεν μπορεί να υπερβαίνει τα 10min. Επίσης η καθυστέρηση στην αιμόσταση αυξάνει τις πιθανότητες ανάγκης μετάγγισης. Η διαγνωστική φαρέτρα περιέχει κλινική εξέταση και διερεύνηση των κοιλοτήτων (θώραξ, κοιλία), ταχέως με υπέρηχο για τις κρυφά σημεία αιμορραγίας, εκτίμηση συσταλτικότητας μυοκαρδίου και ενδαγγειακού όγκου. Εκτιμάται το γαλακτικό οξύ και το έλλειμμα βάσεως ως βιολογικό δείκτη

υποάρδευσης (van Leeuwen et al 2020) και ο έλεγχος πήξεως για την εκτίμηση μετάγγισης, αλλά και την παρακολούθηση της αναζωογόνησης. (Siegemund et al 2019, Cannon 2018).

2) συντηρητική παρέμβαση με ταχείς χρόνους διακομιδής, τοποθέτηση συσφικτικού επιδέσμου (tourniquet) ή αιμοστατικών γαζών, καθυστέρηση χορήγησης κρυσταλλοειδών έως την χειρουργική αντιμετώπιση και με περιορισμό (<3lt στις πρώτες 6hrs). Η κλινική παρέμβαση έχει στόχο την αποκατάσταση ενδαγγειακού όγκου και την ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου, ώστε το "χρέος οξυγόνου" να μειωθεί και εν ευθέτω να αναπληρωθεί. Πρόσκαιρο μέτρο ελέγχου της αιμορραγίας είναι η τοποθέτηση μπαλονιού στην αορτή (resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta (REBOA). Στα ραγέντα ανευρύσματα βρέθηκε να μειώνει την διεγχειρητική θνησιμότητα. Έχει χρήση στην αιμορραγία του γαστρεντερικού καθώς και στην μαιευτική (Cannon 2018).

3) χειρουργικό έλεγχο της αιμορραγίας (**damage control surgery**), ο οποίος περιλαμβάνει αυστηρά μόνο την αντιμετώπιση των απειλητικών για την ζωή κακώσεων ώστε να αποφευχθεί η φονική τριάδα της μεταβολικής οξέωσης-υποθερμίας - διαταραχών πήξης.

Η αναζωογόνηση γίνεται με υγρά, χρήση αγγειοσυσπαστικών και μετάγγιση παραγόντων αίματος, αντιστροφή αντιπηκτικών φαρμάκων όπου ενδείκνεται (Bogert, et al 2016, Mizobata, Astapenko et al 2019) (**damage control resuscitation**). Για την παρακολούθηση του κυκλοφορούντος όγκου και της επάρκειας των παρεμβάσεων χρησιμοποιείται ο υπέρηχος, η θρομβοελαστογραφία και οι ηλεκτρολύτες για την παρακολούθηση του καταρράκτη των πηκτικών μηχανισμών και της ομοιόστασης, με προσπάθεια της διόρθωσης και αναπλήρωσης του χρέους O₂ (Cannon 2018, Chang&Holcomb 2017).

1.8. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑΤΑΞΗΣ

ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΛΗΞΙΑΣ

1.8.1.ΒΛΑΒΗ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ/ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ

Η επανείσοδος του O₂ σε προτέρως ισχαιμούντες ιστούς είναι απαραίτητη για την διάσωση των ιστών, την αποκατάσταση της μεταβολικής τους δραστηριότητας και την λειτουργική αποκατάσταση ιστών και οργάνων, αλλά προκαλεί την **βλάβη ισχαιμίας/επαναιμάτωσης (I/E)**. Η βλάβη εμφανίζει διαφορές τόσο μεταξύ ιστών όσο και μεταξύ ατόμων (Keller et al 2003, Kalogeris et al 2017, Granger 2015), ενώ κατά τεκμήριο είναι βαρύτερη από αυτήν της ισχαιμίας. (Ηπατική βλάβη μετά ισχαιμία 3hrs και επαναιμάτωση 1hr είναι πολύ μεγαλύτερη από την βλάβη που προκαλείται μετά ισχαιμία 4 hrs ωρών). (Parks &Granger 1986)

Η βλάβη-είτε η **τοπική** είτε η **συστηματική**-εδράζεται στην μικροκυκλοφορία η οποία διαφέρει από την μακροκυκλοφορία. Κατά συνέπεια διορθώσεις παραμέτρων της μακροκυκλοφορίας όπως η συστηματική DO₂ αποτυγχάνουν να αποκαταστήσουν και την μεταφορά O₂ στην μικροκυκλοφορία των βαρέως πασχόντων ασθενών (Gattinoni et al 1996, Shoemaker et al 1988, Velmahos et al 2000, Kern and Shoemaker 2002, Smail 2002) και πειραματοζώων (De Backer et al 2003). Πειραματικές μελέτες αποδεικνύουν ότι ακόμη και οι σύγχρονοι τρόποι ανάταξης του αιμορραγικού shock (με αίμα) διορθώνουν τις παραμέτρους της μακροκυκλοφορίας αλλά όχι την άρδευση και στην μικροκυκλοφορία (Williams et al 2020)

Οι διαφορές της μικροκυκλοφορία από την μακροκυκλοφορία είναι :

1. Η κυψελιδική PO₂ είναι πολύ μικρότερη από την αρτηριακή PO₂, καθώς το οξυγόνο μπορεί να διαχέεται όταν το αρτηριόλιο διασταυρώνεται με ένα φλεβίδιο αλλά και να καταναλώνεται σε ενδοθηλιακό επίπεδο. Ο υψηλός μεταβολικός ρυθμός στο μικροαγγειακό τοίχωμα σημαίνει ότι αρκετές λειτουργίες (ανάμεσά τους η σύνθεση NO και η παραγωγή ROS) απαιτούν κατανάλωση οξυγόνου. Το τριχοειδικό

PO₂ παρέχει τροφοδοσία O₂ για το ενδοθήλιο. Αφαίρεση του ενδοθηλίου μειώνει το έκπλυμα O₂ (O₂Extraction Ratio) κατά 3,8-2,5 ml O₂/min/kg και την κατανάλωση O₂ (VO₂). Η ιστική άρδευση και η επιτευχθείσα οξυγόνωση φαίνονται να είναι σημαντικά συστατικά της άνοσης απάντησης (Goris 2000).

2. Ο τοπικός αιματοκρίτης (Ht) διαφέρει από τον συστηματικό. Επιπλέον ο κυψελιδικός Ht είναι ετερογενής σαν συνέπεια της διαβάθμισης του πλάσματος σε αγγεία ποικίλων διαμέτρων και μη γραμμικής κατανομής του Ht σε σημεία τριχοειδικής ασυμμετρίας. Κατά την φάση της ισχαιμίας ο τοπικός μικροαιματοκρίτης και η γλοιότητα του αίματος αυξάνονται εξαιτίας της απώλειας ενδοαγγειακού όγκου. Τέλος ο έλεγχος της μικροαγγειακής αιματικής ροής είναι μικτός και εξαρτάται από τον τοπικό μεταβολικό έλεγχο και τον συστηματικό ορμονικό (De Backer et al 2003).

Η **μικροκυκλοφορία** αποτελείται από αρτηριόλια, τριχοειδή και φλεβίδια. Ενδοθήλιο διαθέτουν όλα, αλλά ισχυρό στρώμα μυϊκών ινών μόνο τα αρτηριόλια (Keel et al 2005 Yu&Kalogeris et al 2019). Επομένως σημειώνεται διαφορά όχι μόνο μεταξύ ιστών, οργάνων και ατόμων, αλλά και αγγείων της μικροκυκλοφορίας και απάντηση των αγγείων στην I/E. Η επίδραση της I/E γίνεται τοπο-ειδική. Η μετιστασιμικός σχηματισμός των ROS/RNS προκαλεί αγγειοκινητικές διαταραχές και θρόμβωση στα αρτηριόλια, παραβλάπτει την τροφοδοσία (φαινόμενο μη επανακυκλοφορίας/no-reflow), αυξάνει την διαφυγή στα τριχοειδή. Στα μετατριχοειδικά φλεβίδια η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (περιγράφεται αναλυτικότερα κατωτέρω) είναι αυτή που ευθύνεται -εν σχέσει με την δυσλειτουργία σε αρτηριόλια και τριχοειδή- για το μεγαλύτερο βαθμό της συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης της I/E (Keel et al 2005, Kalogeris et al 2017, Yu & Kalogeris et al 2019).

Ο πολυπαραγοντικός και συστηματικός μηχανισμός της I/E περιλαμβάνει διακριτούς βιολογικούς μηχανισμούς, όπως ενεργοποίηση της άνοσης απάντησης, συσσώρευση ανιόντων, οξειδωτικό stress από τον σχηματισμό ROS/RNS και την ανεπαρκή κάθαρση τους ή και την αδρανοποίηση των αντιοξειδωτικών συστημάτων, όπως και φλεγμονώδη αντίδραση. Η συστηματική απάντηση μπορεί να εκλυθεί **α.** με υποσημεινόμενη ή και διαλείπουσα παρουσία των ενεργών μορφών(ROS/RNS) ή **β.** μετά από I/E ενός μόνο οργάνου. Είναι ικανή ώστε να οδηγήσει σε πολυοργανική ανεπάρκεια (Halladin 2015, 2014, Kalogeris et al, 2017, Yu et al 2019) με μεσολαβητές όπως οι κυτταροκίνες, η κινητοποίηση των μηχανισμών πήξεως, και

συμπληρώματος και με αγγειοδραστικά μόρια (NO) (Abassi et al 2020, Naito et al 2020, Kalogeris et al 2017). Τα ενδοθηλιακά κύτταρα (EK) τόσο τοπικώς όσο και συστηματικώς επηρεάζονται πρώτα και ιδιαιτέρως στην βλάβη της I/E, ειδικά με την ανατροφοδοτούμενη καταστροφή του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα (ΕΓΚ) (Seal and Gewertz 2005, Korthuis et al in Schmid-Schobein 2003, Childs et al 2002, Astapenko et al 2019, Abassi et al 2020). Αδρά οι μηχανισμοί που εμπλέκονται είναι οι κάτωθι.

1.8.1.1. ΙΣΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

1.8.1.1.1. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ

Οι ROS/RNS (περιγραφή στο οξειδωτικό stress κατωτέρω) και το αυξανόμενο χρέος οξυγόνου προκαλούν κυτταρικό θάνατο κυρίως με μηχανισμούς **νέκρωσης, απόπτωσης, αυτοφαγίας, και νεκρόπτωσης**. Οι μηχανισμοί αυτοί ενώ είναι διακριτής έναρξης και ολοκλήρωσης συχνά αλληλεπικαλύπτονται (Ma S et al, 2015, Abassi et al 2020, Kalogeris et al 2017)

Στην ισχαιμία η **νέκρωση** θεωρείται ο κύριος μηχανισμός. Πάντως η επαγόμενη από την I/E νέκρωση δεν απαιτεί ενέργεια, προκαλείται από την δυσλειτουργία αντλιών ιόντων μεταβάλλει την διαπερατότητα των μεμβρανών, τα κύτταρα εξοιδαίνονται και διαρρήγνυνται και η βλάβη ανατροφοδοτείται με την καταστροφή των μεμβρανών. Ενεργοποιεί την φλεγμονώδη και ανοσολογική απόκριση από προφλεγμονώδεις μεσολαβητές και κατεστραμμένα βιομόρια που προκαλούν την διείσδυση των ενεργοποιημένων ουδετεροφίλων (Ma S et al 2015, Cowled & Fitridge 2011, Kalogeris et al 2017).

Στην επαναιμάτωση απαιτείται ενέργεια, επικρατεί η **απόπτωση** μέσω ενδογενών και εξωγενών οδών, είναι μη αντιστρεπτή, αφορά ολόκληρο το κύτταρο συμμετέχει σε όλα τα όργανα που υφίστανται I/E, με ετερογένεια, διότι τα όργανα διαφέρουν μεταξύ τους στην ικανότητα να ανανήπτουν ενεργειακώς. (Kalogeris et al 2017, Keller et al 2003). Είναι περιορισμένη μορφή όπου σχηματίζονται αποπτωτικά σώματα από κατατμημένα και συρρικνωμένα τμήματα του κυτταροπλάσματος και του πυρήνα, που φαγοκυτταρώνονται από γειτονικά κύτταρα ή φαγοκύτταρα. Έτσι είναι λιγότερο ανοσοδιεγερτική από την νέκρωση και μεσολαβείται από τις κασπάσες.

(Cowled&Fitridge 2011, Kalogeris et al 2017). Ο εγκέφαλος, ο νεφρός και η καρδιά εμφανίζουν τα σημαντικότερα επίπεδα, αντιθέτως με τους σκελετικούς μύες, οι οποίοι χαρακτηρίζονται ανενεργοί ενεργειακά (Keller et al 2003).

Η **νεκρόπτωση ή προγραμματισμένη νέκρωση** είναι μελετημένη καλά στην I/E των νεφρών (Linkermann et al 2013). Είναι ανεξάρτητη των κασπασών, εκκινείται από TNF-like κυττοκίνες οι οποίες ενεργοποιούν κινάσες τροποποιούν την διαπερατότητα των διαύλων μιτοχονδρίων (MPTP), και μέσω νέου σχηματισμού RS προκαλούν οίδημα και ρήξη μεμβρανών. Ενεργοποιεί την συστηματική φλεγμονώδη απάντηση και την ανοσιακή απάντηση.

Στην αυτοφαγία αποικοδομούνται ενδοκυττάρια συστατικά κατεστραμμένων οργάνων και πρωτεϊνών μέσω λυσοσωματικού μηχανισμού και αντικαθίστανται από νέα. Η **αυτοφαγία** αποτελεί μέρος των φυσιολογικών ομοιοστατικών μηχανισμών του κυττάρου. Δρα προστατευτικά στην βλάβη I/E στο ήπαρ και την καρδιά και δεν ενεργοποιεί φλεγμονώδη απάντηση (Kalogeris et al 2017).

Ο **παρθάνατος** είναι μορφή προγραμματισμένης νέκρωσης, ενεργοποιείται από οξειδωτικούς και αλκυλοποιητικούς παράγοντες, που οδηγούν σε υπερέκφραση του πυρηνικού ενζύμου πολυ-(ADP-ριβοζο)-πολυμεράση-1 [poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1)]. Η PARP-1 απαντά στην καταστροφή του DNA και διευκολύνει την διόρθωσή του μέσω της πρωτεάσης καλπαΐνης. (Kalogeris et al 2017). Με την ενεργοποίηση της καταλύει την μεταφορά μονάδων ADP ριβόζης από το NAD στις πυρηνικές πρωτεΐνες (ιστόνες και PARP-1). Αλλά η υπερενεργοποίηση (από τα ROS και το συσσωρευμένο ενδοκυττάριο Ca^{2+} , την υποξία και επανοξυγόνωση) οδηγεί σε αυξημένο κυτταρικό NAD^+ με έκπτωση ATP, εξ αυτού συσσωρευση PARπολυμερών (αξιόπιστος δείκτης παρθανάτου) και μετατόπιση του AIF (apoptosis-inducing factor) από τα μιτοχόνδρια στον πυρήνα, σε πρόγραμμα κυτταρικού θανάτου ανεξάρτητο από την κασπάση. Τα ενδοκυττάρια ROS προάγουν την έκλυση Ca^{2+} από το ενδοπλασματικό δίκτυο, οδηγούν σε μιτοχονδριακή υπερσυσσώρευση Ca^{2+} και αποπόλωση της μεμβράνης και τελικά αύξηση των ενδομιτοχονδριακών ROS (Zhong H et al 2018).

1.8.1.1.2. ΠΡΩΤΕΑΣΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΕΣ

Τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα -από την δράση των ROS/RNS- εκκρίνουν ικανό μέγεθος πρωτεασών, συμπεριλαμβανομένων των μεταλλοπρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας (matrix metalloproteinases/MMPs) οι οποίες αποικοδομούν τις βασικές μεμβράνες και άλλες ιστικές δομές, επιδεινώνοντας την ιστική καταστροφή. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες είναι ομάδα ψευδαργυρο-εξαρτημένων ενζύμων που αποικοδομούν συστατικά του εξωκυττάριου χώρου. Μαζί με τους αναστολείς τους (tissue inhibitors of metalloproteinases/TIMPs), είναι οι κύριοι φυσιολογικοί ρυθμιστές του εξωκυττάριου χώρου.

Στον εγκέφαλο οι αυξημένες MMP-2 και MMP-9 έχουν συνδεθεί με βλάβη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, αυξημένη τριχοειδική διαπερατότητα και εγκεφαλικό οίδημα. Αυξημένες είναι στην βλάβη της I/E πνεύμονος, ήπατος, καρδιάς. Στην παρατεταμένη ισχαιμία χωρίς επαναιμάτωση επίσης συνδέεται με αυξημένες MMP-2 και MMP-9 και ιστική βλάβη (Cowled&Fitridge 2011, Yu et al 2019).

1.8.1.1.3. ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΜΗ-ΕΠΑΝΑΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ

Η αποτυχία αποκατάστασης της ροής αίματος σε ένα αναταχθέν ισχαιμικό όργανο δεν είναι σπάνιο και αποτελεί μία από τις επιλοκές της I/E. Έχει περιγραφεί στους σκελετικούς μύες, την καρδιά, το λεπτό έντερο, και τους νεφρούς. Η χορήγηση ηπαρίνης δεν άρει την βλάβη, ενισχύοντας το ότι για την βλάβη δεν ευθύνονται τα αιμοπετάλια και ο σχηματισμός θρόμβου (Kalogeris et al 2017).

Στην μικροκυκλοφορία μειώνεται ο αριθμός των αρδευόμενων περιοχών, γίνεται ανεπαρκής ή παθολογικά κατανεμημένη η αιματική ροή και μειώνεται η επιφάνεια προς διάχυση θρεπτικών ουσιών. Παρατηρείται μεσοκυττάριο οίδημα, συγκολλητικότητα των ουδετεροφίλων περισσότερο παρά των αιμοπεταλίων, (Korthuis et al 2003, Kalogeris et al 2017), και αύξηση της μικροαγγειακής διαπερατότητας (Kalogeris et al), βλάβη του ενδοθηλιακού φραγμού, μείωση του αυλού των αγγείων (Seal and Gewertz 2005).

Τα PMN γίνονται άκαμπτα και δυσλειτουργικά (stiff) και διαμέτρου 8 μm . Το φαινόμενο επιβαρύνεται από την έκθεση τους στο οξειδωτικό περιβάλλον της ισχαιμίας. Κατά συνέπεια δεν έχουν διάβαση από τα τριχοειδή που είναι διαμέτρου 4 μm (Kalogeris et al 2017). Μετά την εξαγγείωση τους, πραγματοποιούν συνδυασμένη φθορά στα παρεγχυματικά κύτταρα που προσκολλώνται (Korthuis et al 2003). Ενέχονται οι CD11/CD18 στα λευκοκύτταρα, οι ICAM-1 και P-selectin στα ενδοθηλιακά κύτταρα και βεβαίως οι ROS (Kalogeris et al 2017, Yu et al 2019).

1.8.1.2.ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ -ROS /RNS

1.8.1.2.1.ΠΗΓΕΣ ROS /RNS ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ

Τα πρώτα ROS εμφανίζονται 5 min μετά την επαναιμάτωση, με μέγιστο στα 15 min ως 30min και είναι κοινός τύπος και στην επαναιμάτωση και στην σήψη (Idris et al 2005). Κι αυτό διότι σχηματίζονται από πολλές πηγές.

Σχηματίζονται ενεργές μορφές (RS) από πλειάδα κυτταρικών πηγών στο αγγειακό δίκτυο, στα παρεγχυματικά κύτταρα και στα μιτοχόνδρια. Τα RS που συντίθενται προκαλούν βλάβη μεν, αλλά και επάγουν νέο σχηματισμό RS από τα μιτοχόνδρια και αντιστρόφως. Το φαινόμενο ονομάζεται επαγόμενη από RS απελευθέρωση RS (RS-induced RS release/RIRR) και είναι φαύλος κύκλος (Zhong et al 2018). Τα ουδετερόφιλα, άλλα κύτταρα της άνοσης απάντησης, και τα αιμοπετάλια αποτελούν μείζονες πηγές RS. Βλάπτουν όλα τα βιομόρια και κύτταρα. (Yu et al 2019).

Συνοπτικώς τα κύτταρα που μπορεί να παράξουν ROS/RNS είναι τα φαγοκυτταρικά κύτταρα, ειδικά τα μακροφάγα, τα κύτταρα Kupffer, διάφοροι τύποι επιθηλιακών κυττάρων (εντεροκύτταρα, ηπατοκύτταρα και νεφρικά σωληνοειδή κύτταρα) και κυρίως τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα (PMN) και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, που είναι ιδιαίτερος ευαίσθητα στο οξειδωτικό stress (Lum & Roebuck 2001, Hubbard et al 2004, Yu et al 2019).

Η κατά την επαναιμάτωση μιτοχονδριακή βλάβη και οι ηλεκτρολυτικές μεταβολές προκαλούν την γένεση **ROS** από ποικίλες **ενζυματικές πηγές**, όπως η

επαγωγή της ξανθοοξειδάσης(XO), της οξειδάσης του νικοτιναμινο αδενο-νουκλεοτιδίου (NOX ομάδα στην οποία ανήκε η NADPH οξειδάση), της κυκλοοξυγενάσης, της λιποοξυγενάσης, της επαγωγίσιμης NO συνθάσης (inducible NO synthase /iNOS), της αυτο-οξειδωσης των κατεχολαμινών και των αντιδράσεων της μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια (Granger & Kvietys 2015, Cowled & Fitridge 2011). Η XO και τα πολυμορφοποιημένα(PMN) είναι σοβαρή πηγή του ROS μετά από την επαναιμάτωση (Jassem et al 2002). Έτσι το οξειδωτικό stress των ενδοθηλιακών κυττάρων των μετατριχοειδικών φλεβιδίων είναι εντονότερο εν σχέση με τα άλλα κύτταρα λόγω του φορτίου που δέχονται και από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα (Granger & Kvietys 2015).

Στο εξωκυττάριο υγρό των μετιστασιμικών ιστών στο τραυματικό shock εκκρίνονται οι **μη ενζυματικές πηγές ROS** αιμοσφαιρίνη και μυοσφαιρίνη, οι οποίες ομοίως ευθύνονται για τον σχηματισμό ROS κατά ένα μικρότερο βαθμό. (Granger & Kvietys 2015).

Ο πνεύμονας, η καρδιά, το ήπαρ και ο νεφρός διαθέτουν υψηλά **αντιοξειδωτικά συστήματα** (ROS scavengers) (δισμουτάση του υπεροξειδίου, καταλάση, περοξειδάση της γλουταθειόνης, οξυγενάση της αίμης-1) εν σχέση με τον εγκέφαλο. Έτσι ο εγκέφαλος δεν είναι ανθεκτικός στην οξειδωτική βλάβη μόν, αλλά και όταν εξαντληθούν οι αντιοξειδωτικές άμυνες η οξειδωτική βλάβη ισχυροποιείται και ενισχύεται ο φαύλος κύκλος που περιεγράφη. (Kalogeris et al 2017, Yu et al 2019, Granger & Kvietys 2015, Incalza et al 2018).

1.8.1.2.2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΓΕΝΕΣΗΣ ROS/RNS

Στο σχήμα 5 παρατίθενται οι αντιδράσεις δημιουργίας (ROS/RNS) Οι αντιδράσεις I/E στα ενδοθηλιακά κύτταρα παρατίθενται στο σχήμα 2.

Κατά την επαναιμάτωση αποκαθίσταται ταχέως η μεταφορά O_2 κ' υποστρωμάτων και διορθώνεται το εξωκυττάριο pH εκ της έκπλυσης συσσωρευμένου H^+ (παράδοξο του pH), μέ αρνητική συνέπεια την αύξηση των ιόντων Ca^{2+} και την αύξηση της προσφοράς O_2 (παράδοξο του Ca^{2+}). Η επανείσοδος του O_2 μέσω της XO σχηματίζει τα ROS (παράδοξο του O_2) (Kalogeris et al 2017).

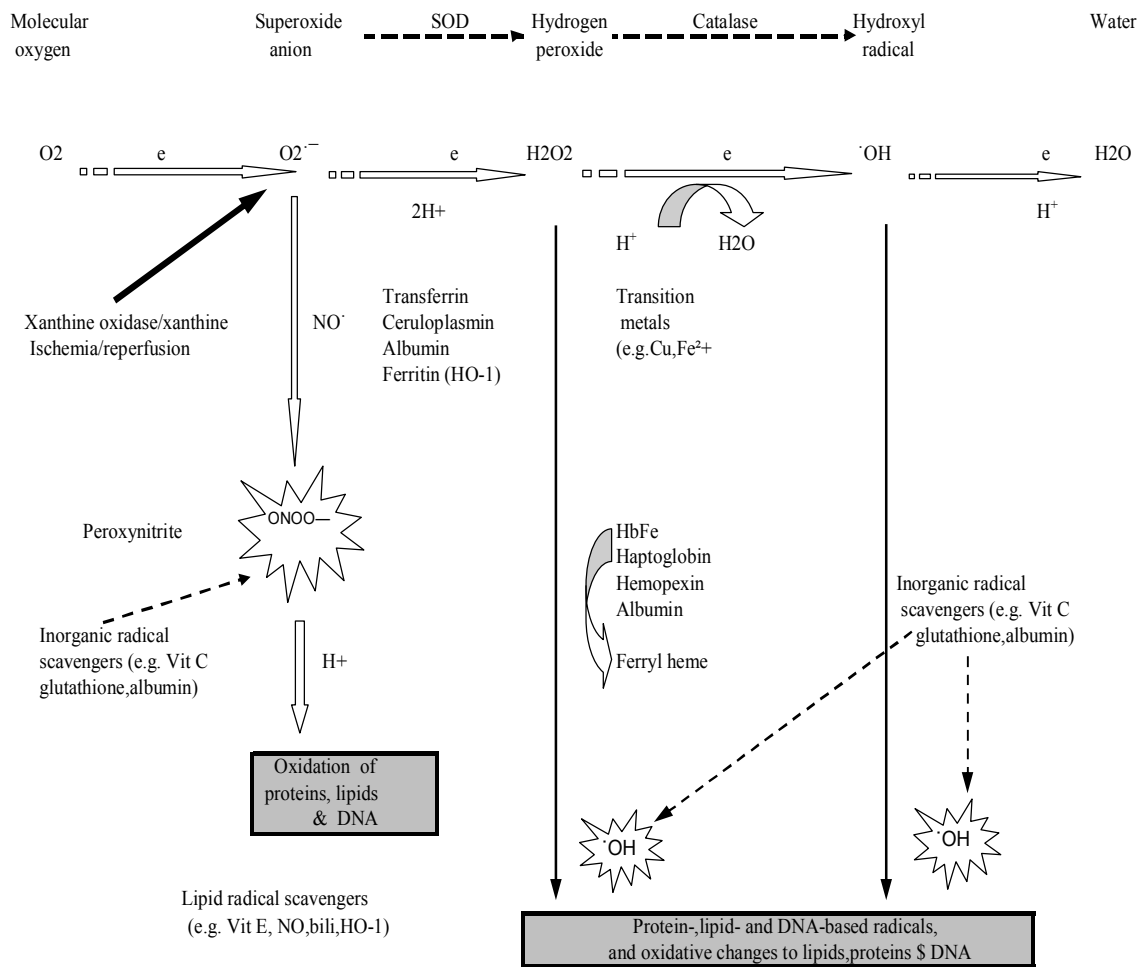
Οι μείζονες μορφές ROS είναι το ανιόν του υπεροξειδίου (O_2^-), το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), η ρίζα του υδροξυλίου (OH^\bullet), (σχήμα6) το νιτρικό οξείδιο (NO) και το υπεροξυνιτρικό ανιόν ($ONOO^-$). Οι ελάσσονες μορφές ROS είναι το λιπιδικό υδροπεροξείδιο, η ρίζα λιπιδικού περοξυλίου, αλκοξυλίου, οι ρίζες θειόλης (Cowled& Fitridge 2011).

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) προκύπτει από την αντίδραση των ριζών του υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$) και κατόπιν μπορεί να μειωθεί στην ιδιαίτερα δραστική ρίζα του υδροξυλίου (OH^\bullet). (σχήμα 5,6). Η παραγωγή ROS από ασταθή μέταλλα όπως Fe^{2+} που συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας γίνεται μέσω της αντίδρασης Haber-Weiss αρχικά με την αντίδραση Fe^{3+} με ανιόν υπεροξειδίου του O_2 σε δισθενή σίδηρο και μετά με την αντίδραση Fenton (σχήμα 4).

$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \bullet OH$. Τα ελεύθερα αυτά ιόντα μετάλλου δρουν ως δότες ηλεκτρονίων κατά την αντίδραση Fenton (Jassem et al 2002, Jairam 2012).

Η λιπιδιακή υπεροξείδωση άρχεται όταν ρίζα υδροξυλίου αποσπά ένα άτομο υδρογόνου από μεθυλενική ομάδα παρακείμενη διπλού δεσμού λιπαρού οξέος. Σχηματίζονται κατά σειρά διένια, η πολύ δραστική ρίζα υπεροξυλίου (LOO^\bullet) και τελικά το υδροϋπεροξείδιο ($LOOH$). Ακολουθεί διάσπαση σε τελικά προϊόντα, τις αλδεύδες όπως η μαλονδιαλδεύδη ή μηλονική διαλδεύδη, που είναι τοξικά και ανιχνεύσιμα (Jairam 2012, Ayala et al 2014). Όπως φαίνεται στο σχήμα 6 η λιπιδιακή υπεροξείδωση καταλήγει στον σχηματισμό των εικοσανοειδών (προσταγλανδινών, λευκοτριενίων, θρομβοξανών που είναι αγγειοδραστικές ουσίες με πρωτεύοντα ρόλο στην οξεία πνευμονική βλάβη (Cowled& Fitridge 2011).

Generation of reactive oxygen species (ROS). NO:nitric oxide; HO:heme oxygenase



σχήμα 5. Αντιδράσεις Γένεσης (ROS/RNS). Αναλυτικά εντός κειμένου.

Ισχαιμία/επαναιμάτωση (ischemia reperfusion I/R),

Υπεροξυνιτρώδες ανιόν ONOO⁻ Xanthine oxidase: οξειδάση της ξανθίνης,

Molecular oxygen: μοριακό O₂

Superoxide anion: ανιόν του υπεροξειδίου, Hydrogen peroxide:υπεροξείδιο του H₂, Hydroxyl

radical: ρίζα υδροξυλίου,

Transferrin: τρανσφερρίνη, Ceruloplasmin: σερουλοπλασμίνη,

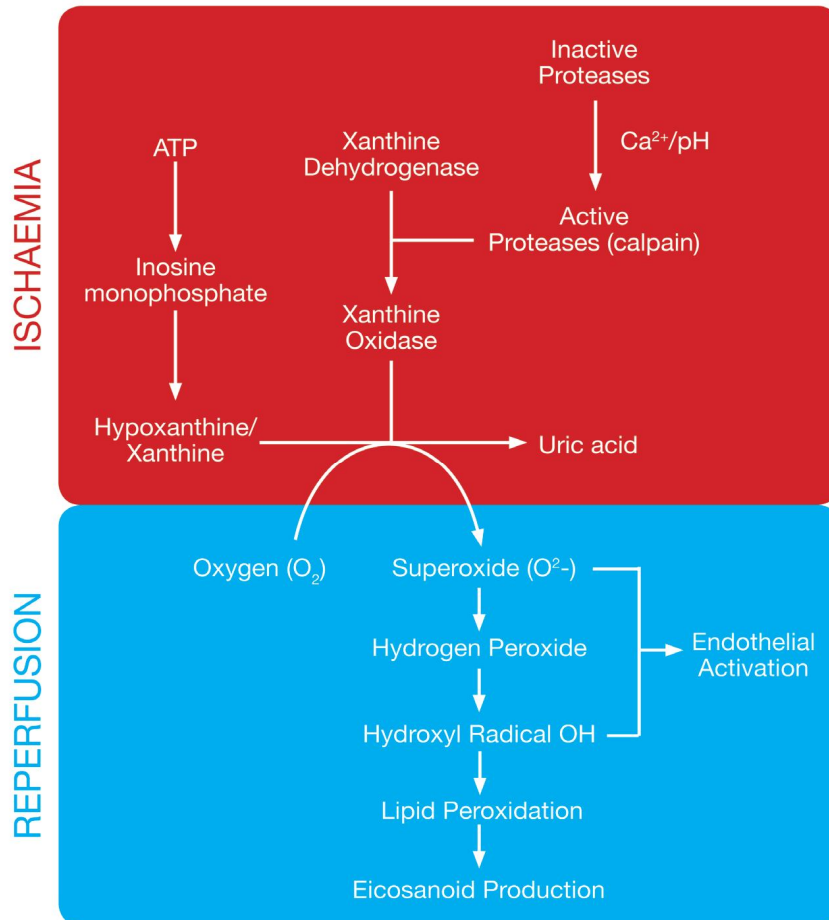
Albumin: αλβουμίνη, Ferritin: φερριτίνη, Transition metals: μέταλλα μετατροπής,

Inorganic radical scavengers: ανόργανοι μεταβολίτες-σαρωτές

Haptoglobin: απτοσφαιρίνη, Hemopexin: αιμοπηξίνη,

Oxidation of proteins, lipids, DNA: οξείδωση πρωτεϊνών, λιπιδίων, DNA,

Catalase: καταλάση (Πηγή: Bettinson 2004)



Σχήμα 6: Αντιδράσεις γένεσης των ROS κατά την επαναιμάτωση (ενεργοποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων, λιπιδιακή υπεροξείδωση (Cowled& Fitridge 2011))

1.8.1.2.3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ NO ΣΤΗΝ ΒΛΑΒΗ I/E

Το νιτρικό οξείδιο (NO) παράγεται από την μετατροπή του αμινοξέος L-αργινίνη (με O₂) σε L-κιτρουλλίνη μέσω της NO συνθάσης. Το NO έχει ιδιαιτέρως μικρό χρόνο ημιζωής, μεταβολίζεται ταχέως σε νιτρικά και νιτρώδη και αποβάλλεται από τα ούρα. Τα ένζυμα που περιλαμβάνονται σε αυτήν την διαδικασία είναι η συνθάση των ενδοθηλιακών κυττάρων [endothelial NOS (eNOS)] που εκφράζεται ιδιαιτέρως, η νευρική (nNOS) και η επαγωγίμη (inducible NOS /iNOS). Το NO που παράγεται από την eNOS είναι ο κύριος ρυθμιστής της αγγειακής ομοιόστασης (Incalza et al 2018). Οι nNOS και eNOS έχουν ιδιοσυστασιακή έκφραση σε διάφορα κυτταρικά διαμερίσματα (σαρκοπλασματικό δίκτυο, μιτοχόνδρια) και σε διάφορους

ιστούς συμπεριλαμβανομένων των πνευμόνων. Αντιθέτως η έκφραση της iNOS επάγεται από ποικίλα ερεθίσματα όπως η ενδοτοξίνη και οι ενδογενείς προφλεγμονώδεις μεσολαβητές, που προκαλούν σχηματισμό των μεγάλων ποσοτήτων NO (Pak O et al 2017).

Το NO διαχεόμενο στις αγγειακές λείες μυικές ίνες συνδέεται με το άκρο της αίμης της διαλυτής γουανυλικής κυκλάσης, σχηματίζοντας την κυκλική-3,5-μονοφωσφορική-γουανοσίνη (cGMP). Ενεργοποιώντας την cGMP-εξαρτώμενη πρωτεϊνική κινάση τελικώς επιφέρει αγγειοδιαστολή (Incalza et al 2018).

Είχε διατυπωθεί η άποψη ότι το NO που παράγεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις για μικρές χρονικές περιόδους μεσολαβεί πρωτίστως στα άμεσα αποτελέσματα, ενώ υψηλές τοπικές συγκεντρώσεις NO εμφανίζονται κατά την διάρκεια παρατεταμένων περιόδων επάγοντας τις έμμεσες αντιδράσεις και προκαλώντας τα παθοφυσιολογικά αποτελέσματα όπως MODS/MOF που ακολουθούν την βλάβη I/E της ανάταξης του shock (σχήμα 7) (Kiang 2004). Στην βλάβη I/E το NO απελευθερώνεται πρώτα από τα ενδοθηλιακά κύτταρα λόγω της ισχαιμίας και των δυνάμεων τάσης και μετά λόγω της επίδρασης της ακετυλ-χολίνης, και βραδυκινίνης. (Incalza et al 2018).

Η χημική βιολογία του περιλαμβάνει άμεσα και έμμεσα αποτελέσματα.

Τα άμεσα αποτελέσματα είναι αντιδράσεις του NO με τις πρωτεΐνες που περιέχουν αίμη, τελικό προϊόν του καταβολισμού της οποίας είναι η χολερυθρίνη (αντιοξειδωτικό). Αυτές οι αντιδράσεις είναι γενικά γρήγορες, απαιτούν χαμηλές συγκεντρώσεις NO, και είναι η γένεση των περισσότερων από τα αποτελέσματα του NO (αγγειοδιαστολή, αντιθρομβωτική δράση, μείωση οξειδωτικού stress, και της απελευθέρωσης κυττοκινών και χυμοκινών, αναστολή της επαγόμενης από κυτταροκίνες της έκφρασης των VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule-1) και MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1) μέσω αναστολής του NF-κB, αναστολή προσκόλλησης λευκοκυττάρων) (Liaudet et al 2001, Ovechkin et al 2007).

Τα έμμεσα αποτελέσματα απαιτούν πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις NO, και περιλαμβάνουν το σχηματισμό N_2O_3 , NO_2 , και HNO_2 κατιόντος (NO^+), και ανιόντος (NO^-) και του περοξυνιτρίτη ($ONOO^-$) [nitrosative stress] (πίνακας 3), ο οποίος αποδίδει ισχυρότατους μεταβολίτες (NO_2 , $HO\bullet$ και CO_3^-) (Pak et al 2017). Αυτοί αντιδρούν με τους κυτταρικούς στόχους όπως τα μιτοχόνδρια (Kiang 2004, Cowled & Fitridge, Ovechkin et al 2007). με αποτέλεσμα την βλάβη από RNS (Liaudet et al

2001) ή και ενεργοποιούν κύτταρα (αιμοπετάλια) (Ovechkin et al 2007). Η τυροσίνη (υπολείμματα πρωτεϊνών) είναι ιδιαίτερα επιρρεπής σε επίθεση των RNS (OONO^-), σχηματίζοντας νιτροτυροσίνη, η οποία ανιχνεύεται ως δείκτης της βλάβης μεταβολικών αζώτου όπως το OONO^- (Pak et al 2017, Liaudet et al 2001, Ovechkin et al 2007).

Το NO και οι RNS (μεταβολίτες) μεσολαβούν την μη αναστρέψιμη νίτρωση της τυροσίνης και της τρυπτοφάνης (υπολείμματα μεταβολισμού ποικίλων πρωτεϊνών), λιπαρά οξέα και γουανοσινο-νουκλεοτίδιο (επιδρώντας στην σύνθεση του DNA), όπως και στην S-νίτρωση υπολειμμάτων μεταβολισμού κυστεΐνης) οδηγώντας σε βλάβη (“nitrative” και “nitrosative” stress, αντιστοίχως). Υπό προϋποθέσεις όλες οι ισομορφές μπορούν να παράξουν υπεροξειδίο αντί του NO. Το φαινόμενο (NOS uncoupling) συμβαίνει όταν περιορίζεται η βιοδιαθεσιμότητα των υποστρωμάτων του, ή των συμπαραγόντων (cofactors) του. (Pak O et al 2017). Πάντως η μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO είτε προκύπτει από μειωμένη παραγωγή, είτε από αυξημένη αντίδραση με το ανιόν του υπεροξειδίου, είναι το σημείο έναρξης της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. (Pak O et al 2017, Incalza et al 2018).

1.8.1.2.4. ΔΡΑΣΕΙΣ ROS/RNS

Η είσοδος κυττάρων της ανοσιακής απόκρισης στους ισχαιμικούς ιστούς προκαλεί βλάβη των ROS/RNS μέσω της NADPH οξειδάσης (σχήμα 2, 4), απελευθερώνει υδρολυτικά ένζυμα και παράγει -μέσω της μυελοπεροξειδάσης (MPO) (σχήμα 3)- υποχλωριώδες οξύ και N-χλωραμίνες (Engels 2015, Jairam 2012, Kalogeris et al 2017).

Στα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα, το H_2O_2 μαζί με την μυελοπεροξειδάση (MPO), παράγει το υποχλωριώδες οξύ (HOCl), που είναι επίσης ένα ισχυρό οξειδωτικό. Τα ενεργοποιημένα PMN παράγουν τη ρίζα $\text{O}_2^{\cdot-}$, ανάγοντας το μοριακό O_2 , μέσω οξειδασών της κυτταρικής τους μεμβράνης. Στη φάση αυτή αυξάνουν την κατανάλωση O_2 κατά 10-20 φορές (respiratory burst). Έμμεσα το HOCl μπορεί να

αποδώσει OH •. (Engels 2015, Jairam 2012), επιδεινώνοντας περαιτέρω την βλάβη. Τα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα, μεταναστεύοντας στους ιστούς επάγουν νέα δυσλειτουργία του αγγειακού φραγμού στην μικροκυκλοφορία,εκκλώντας οξειδάσες και υδρολυτικά ένζυμα (Korthuis et al 2003) και επιβαρύνοντας τις διαταραχές τροφοδοσίας των μετισταμικών ιστών (Korthuis et al 2003).

Το υπεροξυνιτρώδες ανιόν (ONOO⁻) ενώνεται με τυροσίνη, όπως αποδεικνύεται από τον σχηματισμό νιτροτυροσίνης, προκαλώντας stress εκ σωματιδίων αζώτου (RNS) σε ποικίλα κύτταρα και όργανα (Liaudet et al 2001). Το παράγωγο ONOO⁻ και τυροσίνης, η 3-νιτροτυροσίνη και τα αντισώματα εναντίον αυτής χρησιμοποιούνται ως ίχνος της πρωτεϊνικής οξείδωσης (Liaudet et al 2001).

Στον πίνακα 2 παρατηρείται οι βλάβες που προκαλεί το υπεροξυνιτρώδες ανιόν σε διαφόρους ιστούς. Συνοπτικώς, η **λιπιδιακή υπεροξείδωση** προκαλεί τεράστια βλάβη στις μεμβράνες, στις πρωτεΐνες και στις αλύσους του DNA (σχήμα 5). Τα προϊόντα υπεροξείδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) προκαλούν βλάβη στις πρωτεΐνες από τροποποίηση των αλύσεων των αμινοξέων και σχηματισμό καρβονυλικών παραγώγων. Τα τελευταία είναι πρώιμος δείκτης πρωτεϊνικής οξείδωσης, οπότε καθίστανται χρήσιμα για την εκτίμηση της μέτρηση της πρωτεϊνικής βλάβης και κυρίως της μη αναστρέψιμης. (Jairam 2012).

Μηχανισμός	Δράση	Ιστός
Οξείδωση	Βλάβη επιφανειοδραστικού παράγοντα	πνεύμων
Υπεροξείδωση	Καταστροφή λιπιδίων	ποικίλοι
Οξείδωση	Εξάντληση γλουταθειόνης	>>
Αλλοίωση SHομάδων	Αναστολή μιτοχονδριακής αναπνοής	>>
Σχηματισμός νιτροτυροσίνης	Αναστολή SOD	νευρώνες
>>> >>>>	Αναστολή σύνθεσης ντοπαμίνης	>>
Οξείδωση,απαμίνωση, νίτρωση	Καταστροφή αλύσεων DNA	ποικίλοι

Πίνακας 2 Οι δράσεις του ανιόντος του υπεροξυνιτρώδους (ONOO⁻) στα όργανα. Το stress που προκαλείται μπορεί να προκαλέσει κυτταρικό θάνατο και ιστική βλάβη στα διάφορα όργανα και ευθύνεται για ποικιλία ασθενειών και κλινικών συνδρόμων (Πηγή: Cuzzocrea-Riley 2001a).

Η λιπιδιακή υπεροξείδωση προσβάλλει ιδιαιτέρως την μεμβράνη των ερυθρών, τα οποία αποτελούν βασικό αντιοξειδωτικό σύστημα λόγω της

συμμετοχής στην αναγέννηση των οξειδοαναγωγικών ισοδύναμων (NADPH) κ στην κάθαρση των οξειδωτικών ουσιών του οργανισμού με την μετακίνησή τους σε όλο τον οργανισμό (Tsantes et al 2006). Επίσης δεν λειτουργούν και τα άλλα ενδογενή αντιοξειδωτικά συστήματα (σχήμα 5) ενζυμικά όπως της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD), της δισμουτάσης του υπεροξειδίου -εξαρτώμενης από το μαγγάνιο (MnSOD) (Jassem et al 2002) και της εξαρτώμενης από τον ψευδάργυρο και τον χαλκό, της περοξειδάσης και της αναγωγάσης της γλουταθειόνης και της καταλάσης (Jairam 2012), αλλά και μη ενζυμικά όπως της βιταμίνης C και της χολερυθρίνης ή της α-τοκοφερόλης (Bhatia and Mochhala 2004).

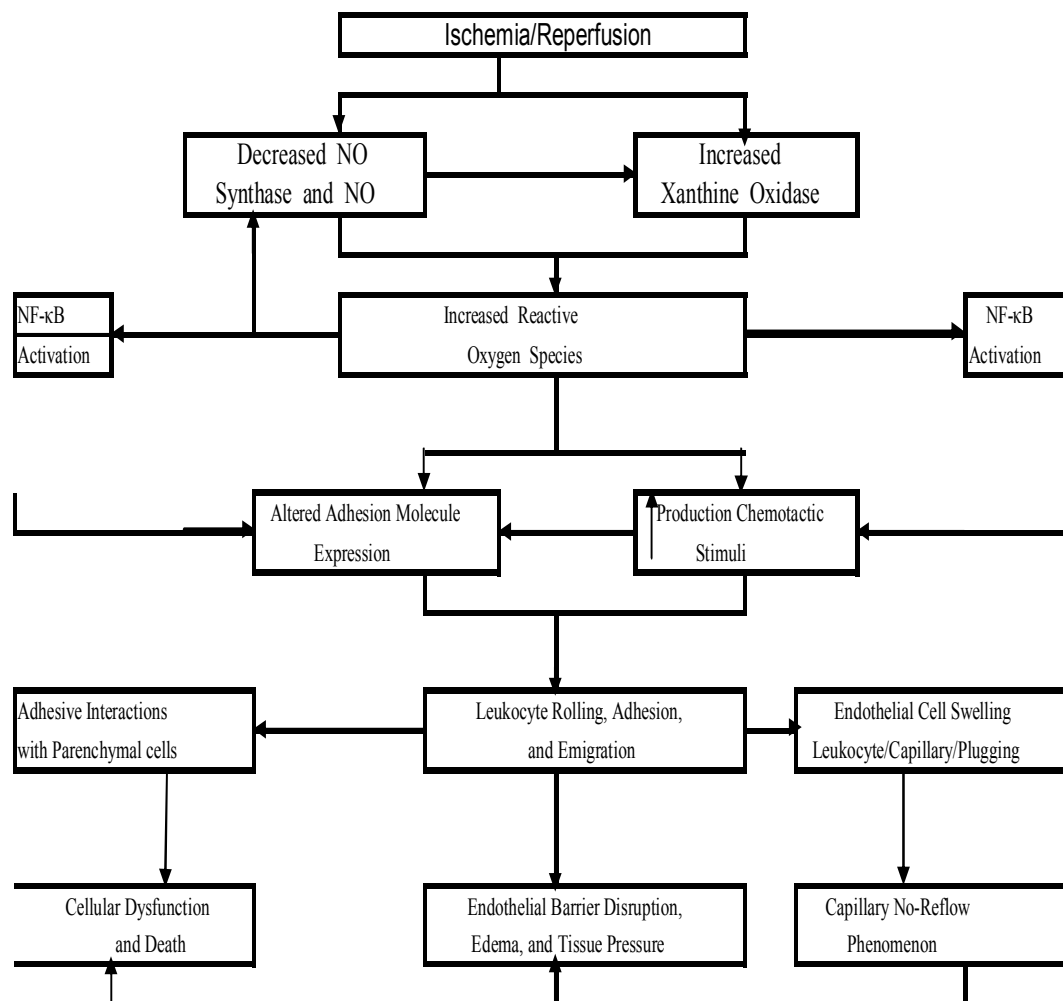
Η οξεία οξειδωτική βλάβη παραβλάπτει και την μιτοχονδριακή αναπνοή. Τα ROS/RNS (ειδικά το OH⁻ και το ONOO⁻) αντιδρούν και βλάπτουν τις μιτοχονδριακές και εξωμιτοχονδριακές δομές, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, των λιπιδίων, και του mtDNA (Jassem et al 2002), με τελικό αποτέλεσμα αυξημένη μικροαγγειακή διαπερατότητα (Childs et al 2002). Ευοδώνεται η διάνοιξη μιτοχονδριακών διαύλων (mitochondrial permeability transition pores/mPTPs) οι οποίοι τόσο σε Κ.Σ. όσο και κατά την ισχαιμία είναι κλειστοί. (Vercesi et al 1997, Kalogeris et al 2017). Η διάνοιξη των mPTP επιτρέπει μόνο μόρια μέχρι 1.5 kDa, άρα όχι τις πρωτεΐνες (Halestrap et al 2007, Kalogeris et al 2017). Εκκινείται η απόπτωση (απελευθέρωση κυττοχρώματος C) (Kagan et al 2005, Vander Heide et al 2013), ο μη αναστρέψιμος κυτταρικός θάνατος και η νεκρόπτωση (πτώση ενδοκυττάρου ATP, διασάλυση ομοιόστασης) (Kim et al 2003). Η διάνοιξη των mPTP θεωρείται κρίσιμη για την μετάβαση του σταδίου της I/E από αναστρέψιμη σε μη αναστρέψιμη. (Halestrap et al 1998, Crompton 1999).

Οι ROS/RNS (Σχήμα 7) μέσα στα πλαίσια της ενεργοποίησης των καταρρακτών της φλεγμονής και του ενδογενούς μηχανισμού της πήξεως εκτός από τα ενδοθηλιακά και τα λευκοκύτταρα προσβάλλουν και άλλα. Στα περιαγγειακά κύτταρα (μακροφάγα, μαστοκύτταρα) προκαλούν έκλυση και άλλων φλεγμονωδών μεσολαβητών (ισταμίνης, κυτταροκινών, LTB₄). Στα μακροφάγα, στα λεία μυϊκά κύτταρα και στους νευρώνες η ανοσοδιέγερση οδηγεί στην αναστολή της μιτοχονδριακής αναπνοής -περιεγράφη ανωτέρω-, που οφείλεται περισσότερο στο ONOO⁻. Αν και η έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις ONOO⁻ οδηγεί σε ταχύ κυτταρικό θάνατο συνδεδεμένο με ισχυρές ενεργειακές διαταραχές, ακόμη και μικρές

συγκεντρώσεις του μπορούν -μετά από αρκετές ώρες- να οδηγήσουν σε αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο (Cuzzocrea-Riley 2001a).

Πάντως η διόρθωση του οξειωτικού κυτταρικού pH της περιόδου της ισχαιμίας ταχέως κατά την επανάρδευση σε φυσιολογικές τιμές, έχει αντίθετο αποτέλεσμα. Η ταχεία διόρθωση επιδεινώνει την κυτταροτοξικότητα, λόγω των μεταβολών στην δομή και την λειτουργία των μεμβρανών. (Kalogeris et al 2017, Naito et al 2020).

Τα ROS γενικώς προάγουν την δημιουργία προφλεγμονωδών παραγόντων, όπως PAF(platelet activating factor), LTB_4 , ενεργοποιημένου συμπληρώματος, TNF- α , IL-1 και άλλων κυτοκινών, αγγειοτενσίνης II, που προκαλούν προσκόλληση λευκοκυττάρων-ενδοθηλίου), μειώνουν επιπλέον τα επίπεδα του NO (πτώση της ενδοθηλιακής NOS και της γουανυλικής κυκλάσης), και μεταβάλλουν την έκφραση μορίων προσκολλησεως στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων (Cowled, & Fitridge 2011) και ισχυρότερα στα μετατριχοειδικά φλεβίδια (Kalogeris et al 2017).

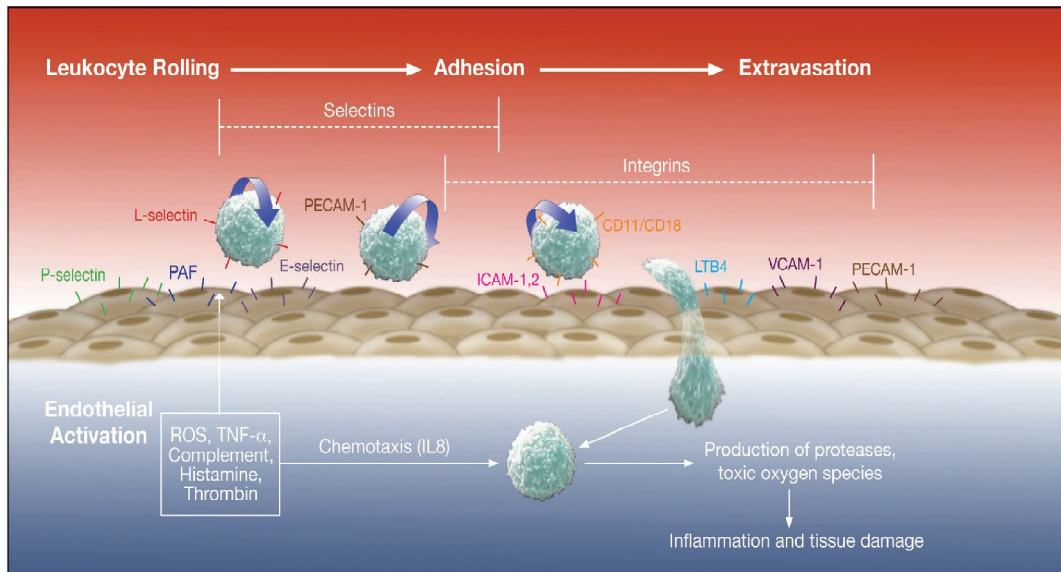


Σχήμα 7 Οι μηχανισμοί που προκαλούν την φλεγμονώδη βλάβη στην I/E. Η ισχαιμία/επαναιμάτωση αυξάνει την οξειδάση της ξανθίνης, μειώνει την δράση της νιτρικής συνθάσης (eNOS) και του (NO) καθώς και την βιοδιαθεσιμότητα του NO. Το οξειδωτικό stress προκαλεί χημειοτακτικά ερεθίσματα με επακόλουθα την έκφραση μορίων προσκόλλησης στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Μόρια προσκόλλησης ενεργοποιούνται πρωτογενώς και δευτερογενώς από την ενεργοποίηση των παραγόντων μεταγραφής (NF-κB).

Κατά συνέπεια, λευκοκύτταρα προσελκύονται, ενεργοποιούνται και διηθούν τους προτέρως ισχαιμικούς ιστούς και συγκολλώνται με τα παρεγχυματικά κύτταρα. Προκαλείται βλάβη της μικροαγγειακής διαπερατότητας και οίδημα. Η πίεση στον διάμεσο ιστό αυξάνεται, συμπιέζει περαιτέρω τα τριχοειδή, παράγοντας το φαινόμενο μη-επανακυκλοφορίας.

(Πηγή: Korthuis et al 2003)



Σχήμα 8. Κύλιση των ουδετεροφίλων πάνω στο ενδοθήλιο και εξαγγείωση. Διακρίνονται κατά σειρά τα μορια που διαμεσολαβούν έως την τοπική φλεγμονή και την ιστική καταστροφή. Κατά την επαναιμάτωση τα ενεργοποιημένα PMN προσκολλώνται στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο και εξαγγειώνονται καταλήγοντας σε πρωτεολυτική αποικοδόμηση των βασικών μεμβρανών. Τα ενεργοποιημένα PMN παράγουν ROS από μοριακό O₂ συμβάλλοντας στην ιστική καταστροφή. (Cowled, & Fitridge 2011).

1.8.1.1. ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ -

1.8.1.3.1. ΡΟΛΟΣ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΣΗΜΑΤΩΝ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Η βλάβη της I/E προκαλεί συστηματική φλεγμονώδη και ανοσιακή απάντηση μέσω υποδοχέων τύπου Toll (Toll-like receptors /TLRs)

Η υποξία ενεργοποιεί μεταγραφικές οδούς, μη-μεταγραφικές οδούς, και διάφορους μηχανισμούς ανάπτυξης οξείας φλεγμονής. Η φλεγμονή της I/E συνδέεται με αντιδράσεις σηματοδότησης μέσω TLRs, επιστράτευση και ενεργοποίηση του συστήματος της εγγενούς και επίκτητης ανοσίας και περαιτέρω ενεργοποίηση του συμπληρώματος (Chen & Nunez 2010).

Οι TLRs είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες με μια κοινή αλληλουχία αμινοξέων που εκφράζονται σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και σε παρεγχυματικά. Οι

TLRs των μονοπυρήνων/μακροφάγων ενέχονται όχι μόνο στην αναγνώριση μικροβίων αλλά και ενδογενών βλαπτικών ερεθισμάτων κατά την διαδικασία της φλεγμονής (Beg et al 2002). Ειδικώς ο TLR-4 ενέχεται στο SIRS και στην δυσλειτουργία πολλών οργάνων. Η δράση του ξεκινά από την περίοδο της ισχαιμίας στο αγγειακό ενδοθήλιο και τα νεφρικά σωληνάκια προκαλώντας οξεία νεφρική βλάβη. Η βλάβη είναι μεικτή (ενδοθήλιο και επιθήλιο) (Chen et al 2019, Naito et al 2020).

Τα μόρια DAMPs (περοξυρεδοξίνη, HMGB-1, νουκλεοτίδια, πουρίνες, θραύσματα νουκλεϊκών οξέων) απελευθερώνονται και στην επανααιμάτωση και εκκινούν την φλεγμονώδη διαδικασία. Τα DAMPs συνδέονται με υποδοχείς της εγγενούς ανοσιακής απάντησης όπως οι TLRs και οι πουρινεργικοί υποδοχείς στην μικρογλοία και στα ουδετερόφιλα, οδηγώντας στην ενεργοποίησή τους. Ακολουθεί ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα (NF-κB), ενεργοποιητικής πρωτεΐνης-1 (activator protein 1/AP-1), και πρωτεϊνικές κινάσες (MAPK/mitogen-activated protein kinase) (Abe et al 2000, Harari & Liao 2010). Τα DAMPs από τα νεκρωτικά κύτταρα και ο σχηματισμός ποικίλων μεσολαβητών προάγουν την συσσώρευση ουδετεροφίλων, τις αντιδράσεις προσκόλλησης στα μετσχαιμικά μετατριχοειδικά φλεβίδια (Kalogeris et al 2017) Αυτά τα μόρια εκκινούν την έκλυση κυτταροκινών, χυμοκινών, μορίων προσκόλλησης (ICAMs, E-selectin), μεταλλοπρωτεϊνάσης-9, iNOS, και ομάδα των NOX(ανήκει η NADPH) (Danton & Dietrich 2003).

1.8.1.3.2. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Η διχοτόμηση τους σε προφλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες δεν είναι απόλυτη, ειδικά όσον αφορά τον τραυματία –αιμορραγούντα ασθενή- (DeLong and Born 2004). Η κυττοκιναιμία δεν είναι σταθερό εύρημα, δεν αντικατοπτρίζει τα επίπεδα των κυτταροκινών στους ιστούς, απλώς επίμονη (>12hrs) προδικάζει υψηλή θνησιμότητα εν μέσω επιπλοκών εντός της MEΘ (σήψη-MODS-MOF) (Marzi 1997, Ying Xin Xu and Ayala 1998, Jarrar et al 1999).

Αν και σε κάθε κυτταροκίνη παρατίθεται συγκεκριμένη δράση, είναι δύσκολο να απομονωθεί η δραστηριότητα μίας επί μέρους κυτταροκίνης από τις υπόλοιπες. Το τελικό αποτέλεσμα εξαρτάται α) από τις υπόλοιπες κυτταροκίνες και μεσολαβητές, β) την χρονική στιγμή στην φάση της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης, και τον ιστό όπου εκλύονται, αλλά και την ποσότητα στην οποία εκλύονται γ) την έκφραση και συγγένεια ειδικών για την κυτταροκίνη υποδοχέων στα κύτταρα -στόχους και γ) την συνολική κατάσταση ενεργοποίησης του κυττάρου-στόχου (Dinarello 2000, Cavillon et al 2003, Giannoudis 2003, Kalogeris et al 2017).

Στην πλειάδα των μελετηθέντων ιστών στην I/E επικρατεί η δράση του πρωτίστως TNF- α (tumor necrosis factor- α) και σε δεύτερο βαθμό της ιντερλευκίνης-1 (interleukin-1/IL-1).

Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα αποτελούν την κύρια πηγή του TNF- α μεν, αλλά παράγεται από πλείστα άλλα κύτταρα δέ, όπως μονοκύτταρα, T-λεμφοκύτταρα, φυσικούς φονείς/natural killer (NK), και ινοβλάστες. Είναι κυττοκίνη πρώιμης απάντησης και έτσι επάγει τις IL-1, IL-6, PAF και την χυμοκίνη IL-8 (Cowled, & Fitridge). Τοπικώς δρά ως παρακρινής μεσολαβητής. Όμως εισέρχεται και στην συστηματική κυκλοφορία σε επαρκείς συγκεντρώσεις για την δράση του σε απομακρυσμένα όργανα, μέσω ενεργοποίησης του NF- κ B και άλλων παραγόντων μεταγραφής και δρά στην έκφραση χυμοκινών, στην εκ νέου σχηματισμό έκλυση ROS και στην έκφραση μορίων προσκόλλησης(ICAM-1) (Kalogeris et al 2017). Στον πνεύμονα επιδείνωσε την βλάβη I/E μέσω επαγωγής της iNOS, της συσσώρευσης PMN και της αύξησης της αγγειακής διαπερατότητας (Cowled & Fitridge 2011).

Τα ενεργοποιημένα ιστικά μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα και το αγγειακό ενδοθήλιο παράγουν τις IL-1 α , IL1 β . Η IL-1 α είναι επίσης ισχυρός χημειοτακτικός παράγων. Επάγει την διήθηση των PMN και ομοίως με τον TNF- α την έκφραση των ICAM-1 στο αγγειακό ενδοθήλιο και την δράση των σελεκτινών (E και L) στο ενδοθήλιο. Τα ICAM-1, IL-8 και PAF με την σειρά τους ευθύνονται για την ισχυρή προσκόλληση των PMN στο ενδοθήλιο (Cowled & Fitridge 2011).

Ο PAF (platelet activating factor) εκκρίνεται στα 15min από την επαναιμάτωση από πλειάδα κυττάρων, ήτοι από τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, τα ηωσινόφιλα, τα βασεόφιλα, τα αιμοπετάλια και το αγγειακό ενδοθήλιο. Η έκλυση του επάγεται από πλειάδα ουσιών που κυκλοφορούν στην επαναιμάτωση, όπως H₂O₂,

θρομβίνη, λευκοτριένια C4, και D4, IL-1b, ισταμίνη, βραδυκινίνη και ATP. Είναι διακυτταρικός και ενδοκυτταρικός αγγελιοφόρος και έχει αγγειοσυσπαστική, χημειοτακτική δράση και αυξάνει την μικροαγγειακή διαπερατότητα. (Cowled & Fitridge 2011).

Η IL-6 παράγεται περίπου σε 30min από την επαναιμάτωση από μονοκύτταρα, ινοβλάστες, και ενδοθηλικά κύτταρα (EK). Διεγείρει την αναπνευστική έκρηξη (respiratory burst) στα PMN, την ενδοθηλιακή έκφραση των ICAM-1 και παραβιάζει το ενδοθήλιο. (Hierholzer et al 1998, Cowled & Fitridge 2011).

Η IL-8 είναι ισχυρός χημειοτακτικός παράγων για τα PMN και ενεργοποιητικός παράγων. Επίσης παράγεται από πλειάδα κυττάρων, ήτοι μονοκύτταρα, T-κύτταρα, NK, ινοβλάστες, ηωσινόφιλα και EK, σε απάντηση στην υποξία, την ισταμίνη, τον TNF-α και την IL-1. Είναι υπεύθυνη για την διαπήδυση των ενεργοποιημένων PMN. Τα υψηλά επίπεδα αποτελούν κακό προγνωστικό δείκτη (Cowled & Fitridge 2011).

Όλες αυτές οι δράσεις συμβάλλουν στην συστηματική φλεγμονώδη απάντηση (SIRS) αρχικώς και των επιπλοκών μετά, όπως και την προσέλκυση και ενεργοποίηση λευκοκυττάρων στους μετισταμικούς ιστούς (Cowled & Fitridge 2011, Kalogeris et al 2017).

1.8.1.3.3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ

Η βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης ενεργοποιεί το συμπλήρωμα και ιδιαίτερα ευνοεί το σχηματισμό προφλεγμονωδών μεσολαβητών. Το συμπλήρωμα ενεργοποιείται με άμεση αύξηση C3 στο ενδοθήλιο στην υποξία και στην επαναιμάτωση. Στην I/E ενέχονται και οι 3 οδοί του συμπληρώματος (κλασσική, εναλλακτική και μαννόζης) (Kalogeris et al 2017).

Το συμπλήρωμα σχηματίζει σύμπλεγμα που προσβάλλει άμεσα τις πρωτεΐνες του πλάσματος προκαλώντας κυτταρική λύση αλλά και σηματοδοτεί την συσσώρευση και ενεργοποίηση των ουδετεροφίλων και των μακροφάγων στους ισχαιμικούς ιστούς. Εκτενής μελέτη γίνεται μέσω της χορηγήσεως των αναστολέων του (Karasu et al

2019). Διαπιστώνεται μείωση της φλεγμονώδους απάντησης, των διαταραχών της μικροκυκλοφορίας και της κυτταρικής βλάβης (Kalogeris et al 2017).

Σε μεταμοσχευθέντες ασθενείς αναστολή ενεργοποίησης του συμπληρώματος που δόθηκε πριν την επαναιμάτωση είχε θετική έκβαση, διότι το 48% αυτών αποσωληνώθηκαν στις 48 ώρες, ενώ γενικώς μειώθηκε ο χρόνος μηχανικής αναπνοής και παραμονής στην ΜΕΘ (Van der Kaaj 2005).

Η πλήρης μελέτη του παράγοντος C3 θεωρείται κομβική για την ανάπτυξη ARDS, και MODS. Από πειραματικά δεδομένα αιμορραγικού shock απεδείχθη ότι ήδη από την φάση της υπογκαιμίας της αιμορραγίας (ισχαιμίας) καταναλώνεται ο παράγων C3, αλλοιώνεται η πρόδρομος πρωτεΐνη του και μειώνονται τα επίπεδα του CH50 με την έκπτωση αυτή να συνεχίζεται νωρίς στην επαναιμάτωση συμβάλλοντας στην εκδήλωση της σήψης και του MODS (Karasu et al 2019).

Στον αγγειακό τόνο επιδρούν το C3a και C5a. Το C3a με τρόπο εξαρτώμενο από την θρομβοξάνη προκαλεί πνευμονική αγγειοσύσπαση. Το C5a διεγείρει την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων και ενισχύει τη φλεγμονώδη απάντηση με συνοδό παραγωγή κυτταροκινών (TNF- α , MCP-1/ χημειοδραστική πρωτεΐνη 1 των μονοκυττάρων, IL-1, IL-6). Επιπλέον, προκαλεί πνευμονική αγγειοσύσπαση για την οποία και χρειάζεται ακέραιο το ενδοθήλιο, καθώς και θρομβοεμβολικά επεισόδια. Μειώνει την νεφρική ροή κατά 30% και την πειραματική διήθηση κατά 45% με τρόπο εξαρτώμενο των λευκοτριενίων, οπότε ήταν ευεργετική η χορήγηση αναστολέα ή η αφαίρεση των ουδετεροφίλων. Αντιθέτως η χορήγηση του συστηματικά συνοδεύεται από πτώση των δεικτών της μακροκυκλοφορίας (MAP/CVP/CO) και ουδετεροπενία, υπάρχουν και αντίθετα ευρήματα. Στην στεφανιαία αρτηρία προκαλεί και αγγειοδιαστολή και αγγειοσύσπαση (Karasu et al 2019).

1.8.1.3.4. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Ανωτέρω στην ισχαιμία και στην επαναιμάτωση περιεγράφη η δραστηριότητα των πολυμορφοπύρηνων λευκών αιμοσφαιρίων (polymorphonuclear leukocyte PMN).

Συνοπτικώς βλάβη του ιστού κατά την διάρκεια της επαναιμάτωσης συμβάλουν σημαντικά PMN μετακινηθέντα κατά την διάρκεια της υπογκαιμίας και ισχαιμίας από τον ενδοαγγειακό προς το διάμεσο χώρο. Για αυτό εμφανίζονται ταχέως -λίγα λεπτά μόνο- μετά την επαναιμάτωση στα μετατριχοειδικά φλεβίδια και είναι κυρίως ουδετερόφιλα.

Τα λευκοκύτταρα (σχήμα 8) προσδένονται στο ενδοθήλιο, αλλάζουν μορφολογία αυξάνοντας και την επιφάνεια επαφής τους με τα ανοσοκύτταρα και το ενδοθήλιο, κυλίνονται, κ μετά κυλίνονται σε πιά αργή κίνηση, προσκολλώνται ισχυρά, έρπονται κατά μήκος του αυλού, διεισδύονται στα περικυτταρικά κενά, αποσυνδέονται από το αγγειακό τοίχωμα και μεταναστεύουν μεσοκυτταρίως ή διακυτταρίως, προσδένονται διηθούν τους επαναιματωθέντες ισχαιμικούς ιστούς, συγκολλώνται με τα παρεγχυματικά κύτταρα, και τελικώς καταστρέφουν το παρέγχυμα (Incalza et al 2018, Kalogeris et al 2017, Cowled,&Fitridge 2011). Τα ουδετερόφιλα όσο και τα μακροφάγα είναι υπεύθυνα μεν για τη φαγοκυττάρωση των μικροοργανισμών και των κυτταρικών συγκριμμάτων, αλλά έχουν κ δεύτερο ρόλο. Μετά την ενεργοποίησή τους προκαλούν και δευτερογενή ιστική βλάβη μέσω της αποκοκκίωσης τους και της συμμετοχής στην παραγωγή RS. Εκκρίνουν ROS (με ρόλο αντιμικροβιακό και ενδοκυτταρίου σηματοδοτήσεως), υποχλωριώδες οξύ με μεσολάβηση της MPO, μεγάλο αριθμό κυττοκινών και χυμοκινών, πρωτεασών (π.χ. MMPs, ελαστάση), και ποικίλους διαλυτούς μεσολαβητές όπως η LTB₄, συμπεριλαμβανομένων των νουκλεοτιδίων της αδενίνης (Kalogeris et al 2017, Yu et al 2019, Cowled &Fitridge 2011).

Στην μικροκυκλοφορία καταστρέφουν τον αγγειακό φραγμό, προκαλούν οίδημα, αυξάνουν την απόσταση διάχυσης για το O₂ και τις θρεπτικές ουσίες. Την δυσλειτουργούσα μικροκυκλοφορία επιβαρύνει το τοπικό φαινόμενο της **μη-επανακυκλοφορίας** (no reflow), η εξαρτώμενη από τα λευκά ανεπάρκεια σε θρεπτικές ουσίες, και η εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο αγγειορυθμιστική δυσλειτουργία στα αρτηρίδια. Η αντίδραση προσκολλησεως λευκών στο ενδοθήλιο είναι ιδιαίτερος πρώϊμη, και επιβαρύνεται από την βλάβη της μικροκυκλοφορίας αι της ιστικής καταστροφής, άρα είναι και σημείο θεραπευτικής παρέμβασης (Kalogeris et al 2017)

1.8.1.3.5. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΓΛΥΚΟΚΑΛΥΚΑ

Η ιστική βλάβη, η αιμορραγία προκαλούν ιστική υποάρδευση, ανάλογη νευροενδοκρινική απάντηση, ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού η οποία μέσω DAMPs, κυττάρων της ανοσιακής απόκρισης, οδού του συμπληρώματος και κυτταροκινών εκλύουν ROS/RNS από τα φλεγμονώδη κύτταρα και ενεργοποιούν τα **ενδοθηλιακά κύτταρα**. (Lord et al 2014)

Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα (EK):

1. κινητοποιούν τον πηκτικό μηχανισμό,

Η επαναιμάτωση επιδεινώνει την ήδη υπάρχουσα ATC σχηματίζοντας μικρούς ασταθείς θρόμβους. Η απώλεια αίματος, η αιμοραϊώση από τα κρυσταλλοειδή της αναζωογόνησης, η νέα κατάτμηση του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα, η υποθερμία και οξέωση (Astapenko et al 2020), και ο φαύλος κύκλος της συνεχιζόμενης αιμορραγίας/αναζωογόνησης λειτουργούν ως φαύλος κύκλος της επιδείνωσης του χρέους O₂. Έτσι έχει εισαχθεί ο όρος "ανεπάρκεια αίματος" (blood failure) για να αποδώσει τις επιπτώσεις της βλάβης των κυττάρων και του ενδοθηλίου (Bjervig et al 2016).

2. συμμετέχουν στην παραγωγή των ROS (Astapenko et al 2020),

3. εκφράζουν μόρια προσκόλλησης με τα λευκοκύτταρα (ουδετερόφιλα και T-λεμφοκύτταρα) (Incalza et al 2018) ,

4. παράγουν κυτταροκίνες (όπως TNF-α, IL-1, IL-8), αυξητικούς παράγοντες (όπως GM-CSF και G-CSF) και άλλους μεσολαβητές, όπως PAF (Platelet Activating Factor), (Ten and Pinsky 2002, Granger 2015).

Επίσης **5.** μειώνεται η παραγωγή αγγειοδραστικών παραγόντων (προστακυκλίνη, NO) και επιταγχύνεται η παραγωγή άλλων (ενδοθηλίνη, αγγειοτενσίνη II, θρομβοξάνη A₂, χημειοτακτικοί παράγοντες) και ενισχύεται η έκφραση γονιδίων, όπως ενδοθηλιακών μορίων προσκόλλησης και κυτταροκινών ενώ καταστέλλεται η έκφραση άλλων (π.χ. eNOS, θρομβομοντουλίνη). Η ενεργοποίηση των EK προηγείται της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, έχει μελετηθεί ευρέως, αλλά ομοφωνία για κάποιο δείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σε πρώιμο στάδιο και πρόγνωσης της εξέλιξης σε σήψη δεν υπάρχει. (Gulati 2016, Incalza et al 2018). Στο ενδοθήλιο ο γλυκοκάλυκας

υφίσταται την μεγαλύτερη βλάβη και σηματοδοτεί την έναρξη της **ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας**. (Incalza et al 2018, Abassi et al 2020, Astapenko et al 2019, 2020).

Η **ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (ΕΔ)** χαρακτηρίζεται από διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ αγγειοδιασταλτικών και αγγειοσυσταλτικών παραγόντων που προδιαθέτει σε προφλεγμονώδη και προθρομβωτικό φαινότυπο. Χαρακτηρίζεται από αγγειοσύσπαση, προσκόλληση ουδετεροφίλων, ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, μιτογένεση, προοξειδωτική βλάβη, διαταραχή πήξης, αγγειακή φλεγμονή έως και θρόμβωση. Λόγω των ανωτέρω μεταβολών η ΕΔ συνδέεται και με χρόνιες νόσους (σακχαρώδης διαβήτης, υπέρταση, αθηροσκλήρωση). (Incalza et al 2018).

Ο **ενδοθηλιακός γλυκοκάλυκας (ΕΓΚ)** είναι ευαίσθητος λόγω της σύνθεσης με σάκχαρα και αρνητικώς φορτισμένος. (Cantan& Martvn-Loeches 2020). Ο ΕΓΚ υφίσταται την πρώτη βλάβη από την ιστική καταστροφή, την υποάρδευση και την υπεργλυκαιμία και μία δεύτερη βλάβη από την I/E, το οξειδωτικό stress, το SIRS, και ιατρογενώς από την υπερ- ή υποανάταξη με υγρά χειρουργικώς κατά την damage-control resuscitation (DCR) ή χειρουργικώς κατά την damage-control surgery (DCS) (Astapenko et al 2019).

Σημασία της σύστασης του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκας.

Ανεφέρθη ότι ο ΕΓΚ αποτελείται από πρωτεογλυκάνες και από γλυκοπρωτεΐνες συνδεδεμένες με σιαλικά οξέα. Οι πρωτεογλυκάνες του αποτελούνται από μία κεντρική πρωτεΐνη (π.χ. συνδεκάνη-1) που συνδέεται σταθερά με την ενδοθηλιακή μεμβράνη και στην οποία συνδέονται αλυσίδες γλυκοζαμινογλυκανών (θεικής ηπαράνης, χονδροϊτίνης, δερματάνης, κερατάνης και υαλουρονάνης). Οι γλυκοπρωτεΐνες συνδέουν τον ΕΓΚ με την μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων. Σε αυτήν την ομάδα των ενδοθηλιακών γλυκοπρωτεϊνών **ανήκουν τα ενδοθηλιακά μόρια προσκόλλησης και τα του συστήματος πήξης και ινωδόλυσης**. Τα αντιπηκτικά μόρια (π.χ. θρομβοξάνη A2, θρομβομοντουλίνη, αντιθρομβίνη III) που υπάρχουν στον γλυκοκάλυκα συμβάλλουν στη θρομβοανθεκτική φύση του υγιούς ενδοθηλίου. Η ακεραιότητα του ΕΓΚ χρειάζεται για την δράση προστατευτικών διαβιαστών/ενζύμων στην I/E, όπως της ενδοθηλιακής συνθάσης του NO (eNOS), που διασφαλίζει βιοδιαθεσιμότητα του NO (Abassi et al 2020), και της εξωκυτταρικής δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD). Η υδροξυλική ρίζα ή τα υποαλογονώδη οξέα δεσμεύονται στις αρνητικά φορτισμένες αλυσίδες των γλυκοζαμινογλυκανών, κάτι που αναιρείται μετά την οξειδωτική βλάβη και άρα την προσβολή της ακεραιότητας

του ΕΓΚ. Η ακέραια σύσταση του ΕΓΚ επίσης αποτρέπει φλεγμονώδη απόκριση διότι δεσμεύει κυτταροκίνες και εξασθενίζει την σύνδεση τους με τους υποδοχείς της κυτταρικής επιφανείας (Abassi et al 2020, Astapenko et al 2019, 2020, Brettner et al 2017).

Μηχανισμός βλάβης του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκος.

Το μέγεθος του πάχους του ΕΓΚ έχει ήδη μειωθεί από την φάση της ισχαιμίας, ευαισθητοποιώντας τον σε κάθε επόμενο βλαπτικό ερέθισμα. (Gulati 2016). Οι ROS/RNSs σχηματίζονται πλησίον της ενδοθηλιακής επιφάνειας, οπότε η άμεση επίθεσή τους στον ΕΓΚ έχει δριμυία αποτελέσματα. Αποδομούν το υαλουρονικό οξύ (HA), τη θειϊκή ηπαράνη (HS) και τη θειϊκή χονδροϊτίνη (CS). Οι ROS/RNSs προσβάλλουν τον ΕΓΚ και με έμμεσο τρόπο μέσω των πρωτεασών (MMPs και ουδετεροφιλικής ελαστάσης) και απενεργοποιούν και τους ενδογενείς αναστολείς των πρωτεασών. Οι MMPs διασπών ολόκληρη την συνδεκάνη με τους συνδεδεμένους κλάδους των γλυκοζαμινογλυκανών και τον υποδοχέα του υαλουρονικού οξέος. Την συνδεκάνη αποδομεί και η ουδετεροφιλική ελαστάση. Τα μαστοκύτταρα μέσω της ηπαρινάσης, που εκκρίνουν, επίσης συντελούν με μικρό ποσοστό στην αποδόμηση της θειϊκής ηπαράνης, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η μακρομοριακή διαπερατότητα. Οι ROS/RNSs άλλωστε επιδρούν και στις κεντρικές πρωτεΐνες των πρωτεογλυκανών με συνέπεια την βλάβη εξ οξειδωσης/νίτρωσης.

Η βλάβη του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα

Η δομική και λειτουργική αποδόμηση του γλυκοκάλυκα από τους φλεγμονώδεις μεσολαβητές καταστρατηγεί τις προστατευτικές στο ενδοθήλιο ιδιότητες του ΕΓΚ. Ενισχύει την προσκόλληση των λευκών αιμοσφαιρίων, επιφέρει την αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας, το διάμεσο οίδημα, την μειωμένη παραγωγή NO, το οξειδωτικό stress, τις μικροθρομβώσεις, την ενεργοποίηση προπηκτικού σταδίου, την έκπτωση και ανεπάρκεια της μικροκυκλοφορίας. (Abassi et al 2020, Astapenko et al 2019, 2020) και εν τέλει η αποδόμηση του ΕΓΚ ενισχύει το SIRS. Η διάσπαση του γλυκοκάλυκα απελευθερώνει κλάσματα θειϊκής ηπαράνης (HS) και υαλουρονικού οξέος (HA), που δρουν ως προφλεγμονώδη μόρια με σημαντικές χημειοτακτικές ιδιότητες. Η αποδόμηση της θειϊκής ηπαράνης του ΕΓΚ έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη ευαισθησία του ενδοθηλιακού κυττάρου στην ενεργοποίηση από τις κυτοκίνες. Έτσι η απελευθέρωση συστατικών του στην κυκλοφορία, επανατροφοδοτεί

την φλεγμονώδη απάντηση. Τα υψηλά επίπεδα αποδόμησης του ΕΓΚ (συνδεκάνη-1, υαλουρονάνη) ανιχνεύονται στο αίμα (Gulati 2016).

1.8.1.3.6. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ

Τα **μόρια προσκόλλησης** (Cell Adhesion Molecules/CAMs), διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην προσέλκυση κυττάρων από την κυκλοφορία του αίματος και στην ενδοκυττάρια σηματοδότηση. (Ley 2007, Kalogeris et al 2017, Incalza et al 2018).

Στην ενεργοποίηση τους ενέχονται φλεγμονώδεις παράγοντες, κυρίως οι ROS του πλάσματος (οι προερχόμενες κυρίως από την ξανθινοοξειδάση και μετά από την NADPH. Η πρόωρη κινητοποίηση των μορίων προσκόλλησης εμφανίζεται από τις αποθήκες (π.χ. P-Selectin από τα σωματίδια Weibel-Palace), ενώ η σύνθεση νέων πρωτεϊνών, επειδή οφείλεται στην ενεργοποίηση των παραγόντων μεταγραφής (NF-κB), επισυμβαίνει ώρες αργότερα και ενισχύει την αρχική φλεγμονώδη απάντηση (Cowled & Fitridge 2011).

Τα μόρια συνδέονται σε διαφορετικά σημεία και έχουν και διαφορετική μορφολογία (Harjunpää et al 2019). Αυτές που εμπλέκονται στο αιμορραγικό shock ανήκουν σε 3 οικογένειες:

1. την οικογένεια των σελεκτινών. Η (P-Selectin ή granulemembrane protein-140 (GMP-140) που αποθηκεύεται στα σωματίδια Weibel-Palade των ΕΚ) εκφράζεται εντός λεπτών στα ΑΜΠ αλλά και στα ενδοθηλιακά. (Harjunpää et al 2019). Η E-σελεκτίνη (ενδοθηλιακά) εμφανίζεται 2-6hrs αργότερα, μετά την διέγερση του ενδοθηλίου από τον TNF-α και την IL-1 (Hubbard et al 2004, Martinez-Mier 2001).

Η L-selectin προέρχεται από τα λευκά και επίσης ενεργοποιείται στο αιμορραγικό shock σε επόμενο στάδιο (Martinez-Mier 2001). Οι σελεκτίνες και η ομάδα IgSF σχετίζονται με την διακυττάρια προσκόλληση. Οι σελεκτίνες δεσμεύουν υδατάνθρακες με Ca-εξαρτώμενο τρόπο (Harjunpää et al 2019).

2. την οικογένεια των ιντεγκρινών. Συνδέονται στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία κυρίως. Οι ιντεγκρίνες που εμπλέκονται στις αλληλεπιδράσεις λευκών ενδοθηλίου

είναι οι $\alpha_4\beta_2$, υποομάδες (very late antigen-4/VLA-4), ή οι $\alpha_L\beta_2$ (lymphocyte functional antigen-1 [LFA-1], ή CD11a/CD18) κ.α. Τα μονοκύτταρα, τα T-λεμφοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα έχουν $\beta_1\beta_2$ υποομάδες ιντεγκρινών στην επιφάνειά τους. Οι ιντεγκρίνες εμπλέκονται και στην σύνδεση ΕΚ και αιμοπεταλίων, (Martinez-Mier 2001), με ιδιαίτερη σημασία στον πνεύμονα.

Επιτρέπουν στα κύτταρα να μεταβάλλουν φαινότυπο από μη προσκολλητικό σε προσκολλητικό, βοηθούν στη μεταβίβαση πληροφοριών από το εξωκυτταρικό περιβάλλον μέσα στο κυτταρόπλασμα. Αντιστρόφως όταν δοθεί σήμα από το εσωτερικό περιβάλλον αυτά τα μόρια αυτά ενεργοποιούνται και συνδέονται με άλλα εξωτερικά μόρια (inside-out φαινόμενο). (Harjunpää et al 2019).

και **3.** την υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών (IgSF):

τα ICAMs (Inter-cellular adhesion molecules/ Διακυτταρικά μόρια προσκόλλησης), (Tamion 2003, Korthuis et al 2003, Marzi 1997). Η έκφραση τους στα ΕΚ ενεργοποιείται από τον κυκλοφορούντα TNF- α σε απάντηση στην I/E (Cowled & Fitridge 2011). Τα ICAM-1 και ICAM-3 είναι ικανά για ισχυρή προσκόλληση και μετανάστευση. Αρχικώς είχαν αναγνωρισθεί για την ικανότητα να συνδέονται με τις β_2 -ιντεγκρίνες. Η ιδιοσυστατική (constitutive) έκφραση των ICAM-2 παίζει ρόλο στην φλεγμονή μέσω κινητοποίησης των PMN. (Martinez-Mier et al 2001)

τα VCAMs (vascular adhesion molecule/αγγειοκυτταρικά μόρια προσκόλλησης) που επάγονται από κυτταροκίνες στα ΕΚ και σε περισσότερα μη αγγειακά κύτταρα από τα ICAM-1. Το VCAM-1 αποτελεί σύνδεσμο για την VLA-4 ιντεγκρίνη και συνδέεται ασθενώς με την $\alpha_4\beta_7$ ιντεγκρίνη. Προσκολλάται ισχυρά. Επίσης η σύνδεση των μονοκυττάρων με τα μόρια VCAM-1 και ICAM-1 των ενδοθηλιακών κυττάρων πραγματοποιείται μέσω της VLA-4 και της LFA-1 (Martinez-Mier et al 2001). Το VCAM-1 δεν ενεργοποιείται από τον TNF- α (Cowled & Fitridge 2011).

τα PECAMs-1 (Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1/αιμοπεταλιακά-ενδοθηλιακά μόρια προσκόλλησης-1), εκφράζονται στα ΑΜΠ, τα λευκά και τα ΕΚ και βεβαίως ενέχονται στην διαπήδηση των PMN μέσω των ενδοθηλιακών συνδέσεων (Martinez-Mier et al 2001). Τα PECAM-1 και τα ICAM-2, ICAM-3 έχουν ιδιοσυστασιακή έκφραση στα αγγειακά κύτταρα, ενώ η έκφραση του PECAM-1 δεν επάγεται από κυτταροκίνες (Hubbard et al 2004, Martinez-Mier et al 2001).

Το φαινόμενο είναι ιδιαίτερος πολύπλοκο. Πρώτη εκφράζεται η P-selectin.

Σε όλη την διάρκεια δράσεως της με τα ενδοθηλιακά κύτταρα(EK) έρχεται σε επαφή δύο φορές. Αρχικώς αλληλεπιδρά χωρίς ισχυρή σύνδεση με τα λευκοκύτταρα πάνω στο ενδοθήλιο, τα λευκοκύτταρα συνεχίζουν να κυλίσουν και οι σελεκτίνες -με τη βοήθεια κυττοκινών- ευοδώνουν ισχυρή προσκόλληση στο ενδοθήλιο και έτσι έρχονται σε επαφή δεύτερη φορά (Kalogeris et al 2017). Με την σύνδεση της P-σελεκτίνης εκκινείται και η επακόλουθη και εξαρτώμενη από τις ιντεγκρίνες αργή κύλιση και προσωρινή κυτταρική διακοπή. Η σύνδεση της P-σελεκτίνης και η ενεργοποίηση του υποδοχέα των χυμοκινών -μέσω του φαινομένου <<inside-out>>- ενεργοποιούν τις ιντεγκρίνες. Η L-selectin έχει δυνατότητα να κάνει πιά ισχυρούς δεσμούς (Harjupää et al 2019). Οι **ιντεγκρίνες** εγκαθιστούν ισχυρές συνδέσεις με τα **ενδοθηλιακά ICAM-1**. Η σύνδεση τους ενεργοποιεί οδούς σηματοδότησης κυτταροσκελετικών αλλαγών που ενισχύουν την βλάβη. Τα ενδοθηλιακά ICAM-1, VCAM-1 και η P-selectin διαμεσολαβούν την αλληλεπίδραση T-κυττάρων και EK. (Kalogeris et al 2017). Εν συνεχεία, πραγματοποιείται η διαδικασία της μετανάστευσης, με πιά κοινό τύπο την παρακυτταρική (paracellular migration). Τα λευκοκύτταρα διέρχονται από τα σημεία μικρότερης αντίστασης. Αυτά είναι στην επαφή μεταξύ δύο γειτονικών ενδοθηλιακών κυττάρων, αποφεύγοντας έτσι τα περικύτταρα και τις περιοχές με υψηλή συγκέντρωση πρωτεΐνης (αλβουμίνη). Εδώ ρόλο διαδραματίζουν τα PECAM-1, ICAM-1, ICAM-2. Τα μόρια προσκόλλησης μπορούν να συμβάλλουν στη μετανάστευση μέσω επαγωγής της έκφρασης άλλων σχετικών μορίων. (Gulati 2016, Harjupää et al 2019).

Τα επίπεδα των mRNA των ICAM-1 αυξάνονται αργά, επανέρχονται μετά το 24ωρο και ευοδώνουν την διήθηση των PMN. Από πειραματικές μελέτες (Martinez-Mier et al 2001) και από κλινικές (Sousa et al 2015) φάνηκε ότι επηρεάζονται στο τραύμα και στην σήψη από το υλικό της αναζωογόνησης. Η αναστολή της δράσης των CAMs για την μείωση της βλάβης I/E απέτυχε κλινικώς (Cowled & Fitridge 2001).

Υπάρχει όμως πεδίο για την χρησιμοποίηση τους ως δείκτες ενδοθηλιακής βλάβης/δυσλειτουργίας ή ως πρόγνωσης δείκτες πρόγνωσης εμφάνισης σήψης και κακής έκβασης.

Για την ενδοθηλιακή ενεργοποίηση και δυσλειτουργία αξιοποιούνται τα VCAM-1, sICAM-1 και vWF (Arrebola-Moreno et al 2011), όπως και η διαλυτή (soluble) P-selectin και η sE-selectin (Vassiliou et al 2015). Τα υψηλά επίπεδα κατά

την εισαγωγή στην ΜΕΘ της sE-selectin και κυρίως της sP-selectin έχουν συνδεθεί με την εμφάνιση βαριάς σήψης (Vassiliou et al 2015). Επιπροσθέτως οι σελεκτίνες αυτές συνδέθηκαν και με καλύτερη προγνωστική ικανότητα για την εκδήλωση της σήψης από τους κλασσικώς χρησιμοποιηθέντες CRP και PCT (Vassiliou et al 2015). Η sE-selectin έχει χρησιμοποιηθεί ως δείκτης θνητότητας σε ασθενείς με SIRS και πρόβλεψης βακτηριαιμίας (Pablo et al 2013). Μάλιστα τα επίπεδα της sE-selectin είναι εξαρτώμενα από την ενδοτοξίνη και δεδομένου ότι εκφράζεται στα ενεργοποιημένα ΕΚ (Gearing et al 1992) αποτελεί αξιόλογο ποσοτικό δείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. (Gulati 2016)

Για την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία όπως και τις συστηματικές επιπλοκές αξιολογούνται και τα ICAM-1 και VCAM-1. Αυτά όπως άλλωστε και οι χυμοκίνες επάγονται από τα ROS μέσω της αγγειοτενσίνης-2 (AngII) και των δράσεων στο ενδοθήλιο (Gulati 2016). Η ενδοτοξίνη επάγει έκφραση γονιδίου και έκφραση πρωτεΐνης ICAM-1 και στα επιθηλιακά κύτταρα του πνεύμονος. Αυτά όμως επηρεάζονται από την θεραπεία που εφαρμόζεται (Cho et al 2016). Συνεπώς είναι χρησιμότερα εάν γίνει σωστή κλινική συνεκτίμηση (Pablo et al 2013). Τα sICAM-1 συσχετίζονται με την φλεγμονώδη απάντηση, την πολυοργανική ανεπάρκεια την εμφάνιση της σήψης και την θνητότητα (Sessler et al 1995). Τα χαμηλά επίπεδα κατά την εισαγωγή στην ΜΕΘ ασθενούς με SIRS θα πρέπει να τύχουν προσεκτικής ερμηνείας. Σαφώς αξιολογούνται αυτά των 24, 48 και 72hrs τα οποία και συσχετίζονται σθεναρά με MODS (Sousa et al 2015).

1.9. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΝΑΤΑΞΗΣ ΤΟΥ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟΥ SHOCK ΣΤΗΝ ΒΛΑΒΗ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ- ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ

Το σύνδρομο της οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) συμφώνως με τον επίσημο ορισμό της διεθνούς επιτροπής ομοφωνίας Αμερικής και Ευρώπης στο Βερολίνο το 2012, ορίζεται ως η αιφνίδια σοβαρή επιδείνωση της πνευμονικής λειτουργίας, που χαρακτηρίζεται από την παρουσία διάχυτων διηθημάτων στην απεικόνιση του θώρακος και μη καρδιογενή αναπνευστική ανεπάρκεια, που οδηγεί σε ήπια, μέτρια ή σοβαρή διαταραχή της οξυγόνωσης. **Ο νέος ορισμός για το ARDS χαρακτηρίζεται από ευχρηστία, αξιοπιστία και από εγκυρότητα.** Επίσης με την νέα αυτή κατάταξη προκρίνεται αμεσότερα η κατηγορία ασθενών που πιθανόν να ωφεληθεί από την εφαρμογή ορισμένων θεραπευτικών παρεμβάσεων όπως είναι η πρηνής θέση, ο υψίσυχνος μηχανικός αερισμός (HFV) ή και η εξωσωματική οξυγόνωση (ECMO). Συμφώνως και με τον βαθμό της υποξυγοναιμίας προκύπτουν **τρεις κατηγορίες: το "ήπιο" ($200\text{mmHg} < \text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300\text{ mmHg}$) με PEEP ή CPAP $\geq 5\text{ cmH}_2\text{O}$, το "μέτριας βαρύτητας" ($100\text{mmHg} < \text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200\text{mmHg}$) με PEEP ή CPAP $\geq 5\text{ cmH}_2\text{O}$, και το "σοβαρό" ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 100\text{mmHg}$) με PEEP ή CPAP $\geq 5\text{ cmH}_2\text{O}$ (Berlin definition. JAMA 2012).**

Παρόλο που από την επιτροπή αφαιρέθηκε ο όρος της **οξείας πνευμονικής βλάβης (Acute Lung Injury /ALI)**, που αντιστοιχούσε στην ήπια μορφή του συνδρόμου, ως επιφέρων σύγκριση (Berlin definition JAMA 2012), συνεχίζει να χρησιμοποιείται από τους συγγραφείς ευρέως μέχρι και στις ανασκοπήσεις (Spadaro et al 2018). Τα πειραματικά μοντέλα της οξείας πνευμονικής βλάβης χρησιμοποιούν την μελέτη της (ALI) ως προκλινικό αντίστοιχο για την μελέτη του ARDS των ασθενών (McIntyre et al 2016)

Τα **αίτια** βλάβης του πνεύμονα στους ανθρώπους είναι κυρίως εξωπνευμονικά, όπως σήψη, τραύμα, βλάβη εξ ισχαιμίας/επαναιμάτωσης (I/E) μετά από αιμορραγία,

συμπεριλαμβανομένων και των υγρών αναζωογόνησης (Gulati 2016) προγραμματισμένα ή επείγοντα χειρουργεία, μεταμοσχεύσεις, παγκρεατίτιδα, πολλαπλές μεταγγίσεις, κ.α (Ware & Matthay 2000, Orfanos et al 2004, Vasiliou et al 2020).

Η **παθογένεση** του συνδρόμου περιλαμβάνει πρώιμη φάση (οξεία εξιδρωματική) και αψότερη φάση (ινωδο-υπερπλαστική). Παρατηρείται προοδευτικά επιδεινούμενη βλάβη του κυψελιδικού επιθηλίου και του ενδοθηλίου των πνευμονικών τριχοειδικών αγγείων, με αποτέλεσμα την αυξημένη διαπερατότητα του κυψελιδοτριχοειδικού φραγμού, αλλοιώσεις στον πνευμονικό ιστό, ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού, και μηχανισμών ίνωσης και απόπτωσης. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η ινωδο-υπερπλαστική φάση δεν είναι αψότερη, αλλά εξελίσσεται από την έναρξη της φλεγμονής. (Spadaro et al 2018). Η βλάβη I/E του πνεύμονα (LIRI) αντιστοιχεί στην πρώτη φάση (Laubach & Sharma 2016). Παρατηρείται **στην μεταμόσχευση (Van der Kaaj 2005, Wyeker et al 2012), στο τραυματικό shock και στην βλάβη του πνεύμονα μετά επαναιμάτωση απομεμακρυσμένου οργάνου (Chen et al 2019, Thais-Fantozzi et al 2018)**. Έχουν αναπτυχθεί μοντέλα για την μελέτη της μέσω των οποίων έχει αναδειχθεί η σχέση της I/E με την πολυοργανική ανεπάρκεια και σήψη. (Matute-Bello et al 2018, Pak et al 2017).

1.9.1. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ

Κατά την διάρκεια της ισχαιμίας οι ATP-εξαρτώμενες αντλίες μεμβράνης αδρανοποιούνται, αυξάνεται το ενδοκυτταρικό ασβέστιο, και προκαλείται φλεγμονή, σχηματισμός ριζών οξυγόνου (ROS), και θάνατος κυττάρων. Η ενεργειακή έκπτωση μετά την βλάβη της ανάταξης του αιμορραγικού shock παρουσιάζει ετερογένεια με τον πνεύμονα να υφίσταται την μεγαλύτερη έκπτωση από το ήπαρ, την καρδιά και το έντερο (Keller et al 2003).

Το συσσωρευμένο Ca^{2+} ενεργοποιεί μετασχηματισμό της ξανθινο-δευδρογενάσης στην ξανθινο-οξειδάση και την φωσφολιπάση A_2 , (μέσω επαγωγής την παραγωγής του platelet activating factor/PAF), η οποία επάγει την παραγωγή του

αραχιδονικού οξέος ως πρόδρομου για την παραγωγή των εικοσανοϊδών. Το αραχιδονικό μέσα στους πνεύμονες μεταβολίζεται από δύο ένζυμα, την κυκλοοξυγενάση και την 5-λιποξυγενάση. Μέσω της οδού της κυκλοοξυγενάσης σχηματίζονται οι προσταγλανδίνες (PGE1κ'PGI2) και οι θρομβοξάνες (TXA2), και μέσω της 5-λιποξυγενάσης τα λευκοτριένια (B4, C4, D4 και E4) (Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade2015) Κατά την βλάβη Ισχαιμίας–Επαναιμάτωσης (I/E) και όπως φαίνεται στο σχήμα 9:

- 1) οι θρομβοξάνες (παράγωγα των αιμοπεταλίων),
- 2) τα λευκοτριένια (παράγωγα των λευκοκυττάρων) και
- 3) οι προσταγλανδίνες (λεία μυικά κύτταρα) αυξάνονται, ενώ
- 4) η προστακυκλίνη (από τα ενδοθηλιακά κύτταρα με ισχυρή αγγειοδιασταλτική δράση) μειώνεται (de Perrot et al 2003, Van der Kaaj 2005, Matthay et al 1999, 2003).

1.9.2.Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS

Στον πνεύμονα υπάρχουν ιδιαιτερότητες σχηματισμού ROS/RNS και εξ αυτών της οξειδωτικής βλάβης εκ του stress, διότι η ισχαιμία δεν είναι ταυτόσημη με ανοξία ή υποξία. Κατά την διάρκεια της ισχαιμίας του αιμορραγικού shock στις κυψελίδες υπάρχει ακόμη οξυγόνο. Η βλάβη υποξίας/επανοξυγόνωσης δεν είναι ταυτόσημη με την βλάβη I/E, φαινόμενο που μελετήθηκε στην αποθήκευση μοσχευμάτων στις μεταμοσχεύσεις (de Perrot et al 2003)

Τα ROS/RNS στον πνεύμονα παράγονται από τα ενδοθηλιακά, τα τύπου II κυψελιδικά, και τα επιθηλιακά κύτταρα των αεροφόρων οδών, καθώς και από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα, και τα αιμοπετάλια (Ovechkin et al 2007) βλάπτοντας τις ενδοθηλιακές και επιθηλιακές λειτουργίες του οργάνου είτε πρωτογενώς (Bhatia & Moochhala 2004), είτε δευτερογενώς ως απομεμακρυσμένο όργανο (πχ. I/E εντέρου ή κάτω άκρου) (Chen et al 2019, Halladin 2015). Ο πνεύμονας διαθέτει τα περισσότερα ένζυμα παραγωγής, ήτοι την ξανθοξειδάση (XO), την NADPH, τα μιτοχόνδρια και το κυτόχρωμα P450 (Granger&Kvietys 2015). Η XO δρά κυρίως στο ενδοθήλιο

(Welbourn 1991) και η NADPH βρίσκεται κυρίως στην μεμβράνη των ουδετεροφίλων, των μονοκυττάρων/μακροφάγων, όπου και καταλύει την αναγωγή του O_2 σε ανιόν του υπεροξειδίου και H_2O_2 .

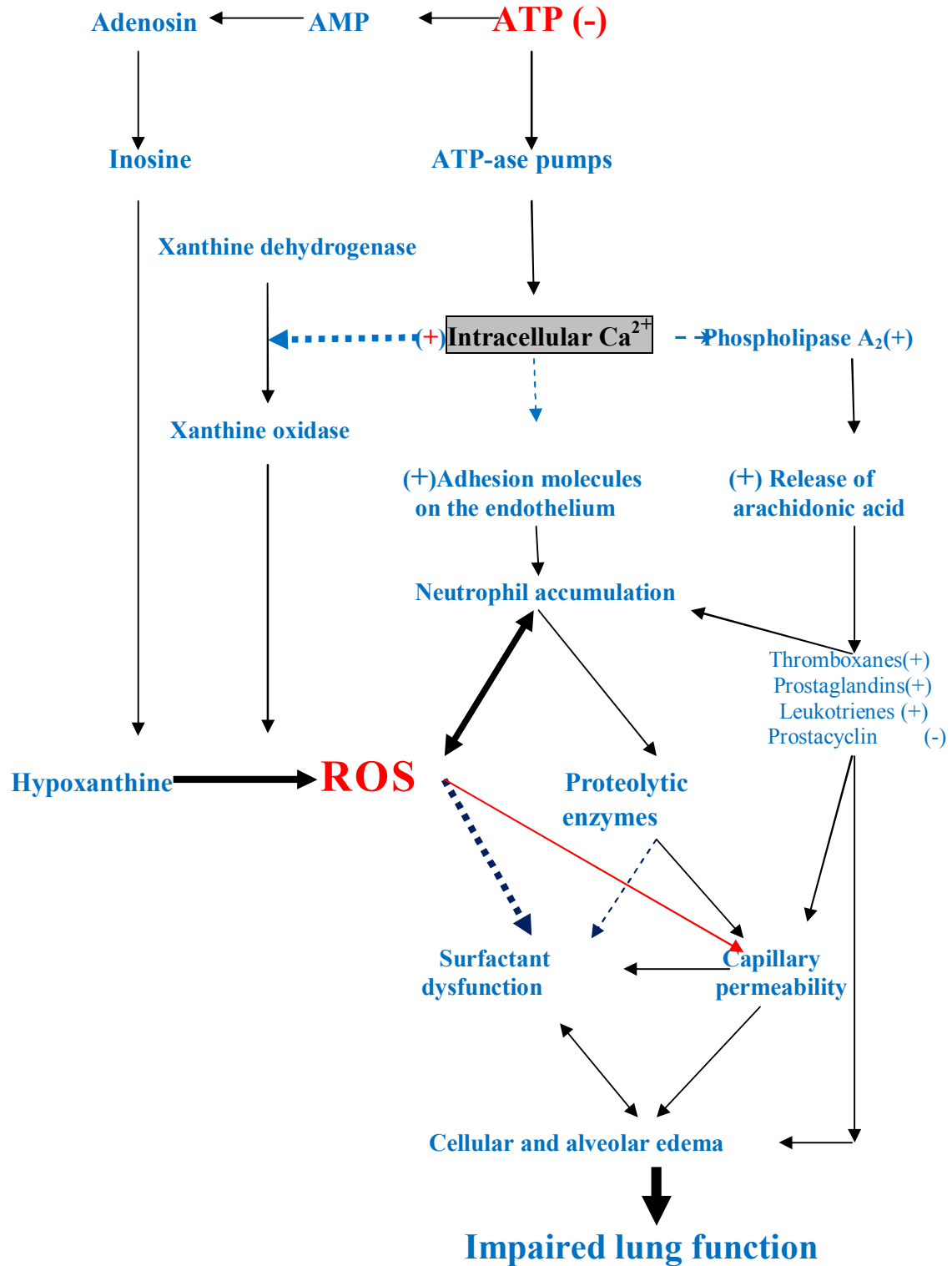
Κατά την ισχαιμία η κυψελδική τάση O_2 μπορεί να πέσει σε υποξικό επίπεδο (7 mmHg). Τότε η αλλοπουρινόλη -αναστολέας της XO- μπορεί να σταματήσει την ταχεία αποδόμηση της ATP προς υποξανθίνη. Το ενδοθήλιο είναι η κύρια πηγή ROS/RNS στην φάση της ισχαιμίας του πνεύμονος. Η απώλεια της ροής, άρα της ικανότητας μετάδοσης ηλεκτρικών και βιοχημικών σημάτων- προκαλεί αποπόλωση της μεμβράνης των ΕΚ και ενεργοποίηση της NADPH, του NF-κB, και της εξαρτώμενης από το Ca^{2+} NOS (de Perrot et al 2003) σχήμα 10.

Ο ρόλος των NOS στην LIRI

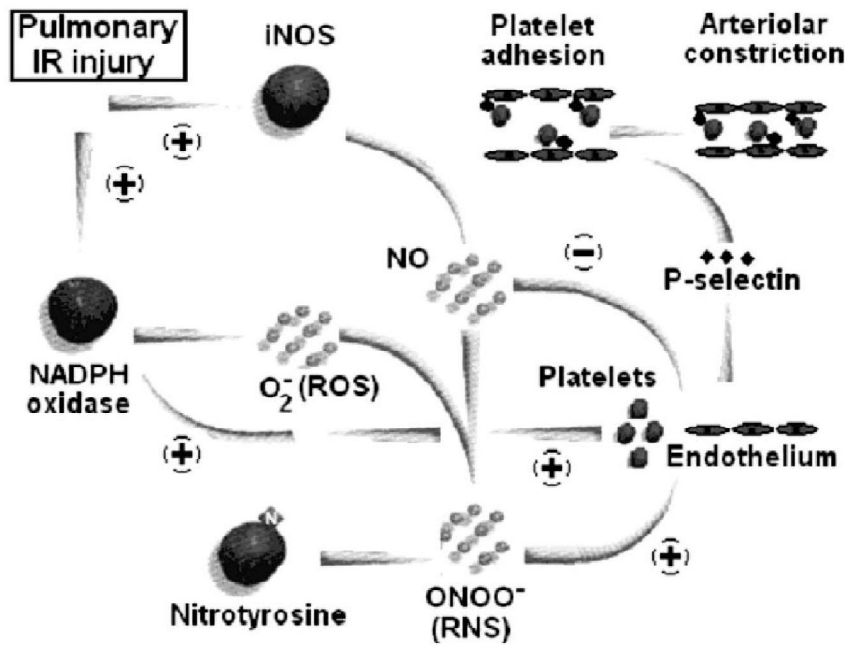
Ο ρόλος της αναστολής ή ευόδωσης του NO και των RNS στον πνεύμονα είναι αμφίσημος. Δεν είναι σαφές ποιά πηγή NO (eNOS, nNOS or iNOS) είναι ενεργή στην LIRI και σε ποιά φάση της I/E γίνεται η μετατροπή της συγκέντρωσης του NO. Σε πειραματικά μοντέλα τροκτικών κυρίως απεδείχθη ότι 1) η απελευθέρωση ONOO- προκαλεί πολύ νωρίς στην επαναιμάτωση κυτταρικές αντιδράσεις, 2) η χορήγηση NO έχει αποκλίνοντα αποτελέσματα στην LIRI. Τα ευεργετικά είναι στην ισχαιμική και στην απώτερη φάση της επαναιμάτωσης, ενώ στην πρώιμη φάση είναι βλαβερά.

Δεν είναι ικανή κ αναγκαία συνθήκη ότι η eNOS είναι ευεργετική και η επαγωγή της iNOS βλαπτική στην LIRI.

Γενικώς το NO από την eNOS παίζει θετικό ρόλο, ενώ η τοπική παραγωγή στον πνεύμονα μεγάλων ποσοτήτων NO από την iNOS ή την nNOS ενεργοποιεί καταστρεπτικούς μηχανισμούς μέσω αύξησης του ONOO⁻. Το φαινόμενο <<NOS uncoupling>> που περιεγράφη ανωτέρω ισχύει για τον πνεύμονα. Η iNOS ή και η nNOS μπορούν να πυροδοτήσουν LIRI μέσω άμεσης παραγωγής ή $O_2^{\cdot-}$ εκσεσημασμένης παραγωγής NO με αύξηση των επιπέδων του ONOO⁻ (Pak et al 2017). Το οξειδωτικό stress στην LIRI (σε αρουραίους) προκαλεί κατάτμηση των αλύσων DNA, οι οποίες για την επιδιόρθωση και στον πνεύμονα ενεργοποιούν το σύστημα της PARP (Laubach&Sharma 2016).



Σχήμα 9. Παθοφυσιολογία Βλάβης-Ισχαιμίας Επαναιμάτωσης πνεύμονος.. Βλέπε κείμενο. (Πηγή: Van der Kaaj et al 2005)



Σχήμα 10. Βλάβη ισχαιμίας επαναιμάτωσης πνεύμονος.

Το οξειδωτικό stress επάγει την γένεση των RNS, η οποία ενεργοποιεί το ενδοθήλιο καί τα αιμοπετάλια με συνοδό προσκόλληση των AMΠ στο αρτηριακό τοίχωμα και απελευθέρωση αγγειοδραστικών ουσιών, μέσω μηχανισμού εξαρτώμενου από την P-selectin, με ακόλουθη πνευμονική αγγειοσύσπαση. Η αύξηση της έκφρασης P-selectin expression διαμεσολαβείται από την επαγόμενη NOσυνθάση (iNOS). Το υπερπαραγόμενο NO μέσω της νιτροτυροσίνης σχηματίζει τα RNS (Πηγή : Ovechkin et al 2007)

1.9.3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ

Ποικιλία σηματοδοτικών οδών, ειδικώς παραγόντων μεταγραφής ενεργοποιούνται με άμεσο ή έμμεσο τρόπο γιά να επάγουν την φλεγμονώδη απάντηση στον πνεύμονα, είτε στο αρχικό στάδιο όπου δεν υπάρχει οσηπτικός παράγων, είτε αργότερα. Τέτοιοι είναι ο NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), η AP-1 (activator protein 1) κυρίως, οι οδοί της MAPK (Mitogen activated protein kinase), η ομάδα των IRFs (interferon regulatory factors), και ο TCF/LEF (T-cell factor/lymphoid enhancer-binding factor). Μηχανικά, τα PAMPs (λιποπολυσακχαρίτες, ενδοτοξίνες), και τα DAMPs (heat-shock πρωτεΐνες, HMGB1 κλπ) αναγνωρίζονται από τους PRRs (pattern recognition receptors) (π.χ TLRs και κυρίως οι TLR-4 μαννόζης, κλπ). Οι PRRs με την σειρά τους εκκινούν ενδοκυττάρους

καταρράκτες σηματοδότησης και τελικώς ενεργοποιούν παράγοντες μεταγραφής, ούτως ώστε να μεταναστεύσουν στον πυρήνα και να επάγουν την έκφραση ποικίλων προφλεγμονωδών κυτταροκινών, χυμοκινών γονιδίων και mitRNA (Zhi Chen & Shan Hua 2020, Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade 2015).

Αναστολή της ενεργοποίησης του NF-κB είναι η επιτάχυνση της λύσης της πνευμονικής βλάβης, μειώνοντας τον αριθμό των ενεργοποιημένων λευκοκυττάρων (Fan et al 2001). Αντιοξειδωτικοί και ανοσοκατασταλτικοί παράγοντες ή εισπνεόμενα αναισθητικά (Chen L et al 2019) και αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (Fan et al 2001) καταστέλλουν την δράση του NF-κB, ευοδώνουν την έκφραση του I-κB και μειώνουν την βλάβη, επιβεβαιώνοντας τον ρόλο της μεταγραφής στην βλάβη (Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade 2015). Ο I-κB επίσης διαμεσολαβεί την έκφραση αποπτωτικών δεικτών (όπως Bcl-2 και Bax). Αλλά αναστολή ενός μόνο παράγοντα δεν αρκεί για να αμβλύνει την βλάβη (Chen L et al 2019).

1.9.4.Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΘΑΝΑΤΟΥ

Η απόπτωση φλεγμονωδών και κυψελιδικών επιθηλιακών κυττάρων διαμεσολαβεί την LIRI -με ή χωρίς σήψη- μέσω κασπάσης-3. Σε μοντέλο ισχαιμίας νεφρού η πνευμονική απόπτωση προέκυψε από την ενεργοποίηση του NF-κB μέσω της σύνδεσης του TNF-α στον υποδοχέα του TNFR1. (Chen L et al 2019) Σημειωτέον είναι ότι τα ενδοθηλιακά (EK) και τα επιθηλιακά κύτταρα του πνεύμονα δεν δρουν το ίδιο στον προγραμματισμένο θάνατο. Τα EK δεν αποπίπτουν μέσω κασπάσης. Στους ανθρώπους στην καρδιοπνευμονική παράκαμψη έχει ανιχνευθεί αυξημένη δραστηριότητα κασπάσης-3.

Πρώτη από τις νεώτερες μορφές κυτταρικού θανάτου πνεύμονα με τον πνεύμονα ως το απομακρυσμένο όργανο έχει αναφερθεί η νέκρωση, και προσφάτως η νεκρόπτωση και ο παρθάνατος σε μοντέλο μεταμόσχευσης. Η επίδραση του TNF-α στα επιθηλιακά κύτταρα θεωρείται προς το παρόν υπεύθυνη μόνον, αλλά ο ρόλος δεν έχει αποσαφηνιστεί. (Chen L et al 2019)

Το τραύμα και η λοίμωξη μέσω PAMPs και DAMPs απελευθερώνουν

φλεγμονοσώματα, τα οποία προτάθηκε ότι ενέχονται στην εκκίνηση της νεκρόπτωσης. Προσφάτως σε πειραματικά μοντέλα αιμορραγικού shock έχει διαφανεί η επαγωγή της νεκρόπτωσης των ουδετεροφίλων (PMN) από τα ενεργοποιηθέντα μακροφάγα (ΜΦ). Ο μηχανισμός είναι μέσω εξωσωμάτων, που προκαλούν την γένεση ROS από τα PMN μέσω NADPH. Ο ρόλος όμως και της νεκρόπτωσης των PMN είναι στην αρχή της διερεύνησης.

Η πυρόπτωση έχει επίσης αναφερθεί προσφάτως. Εξαρτάται από την κασπάση-1 ή την κασπάση-11/4/5 και χρησιμοποιεί φλεγμονώδεις διαδικασίες! Πρόκειται για υπερβολική διέγερση της παραγωγής IL-1β μέσω ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος, που οδηγεί σε καταστροφή του κυττάρου. Η κασπάση-1 στα ΜΦ εμπλέκεται με την έκκριση των IL-1β και IL-18. Τα φλεγμονοσώματα απελευθερώνονται από τα πυροπρωτικά κύτταρα, λειτουργούν ως σήματα κινδύνου, και ενισχύουν την φλεγμονώδη απάντηση των ΜΦ. Όμως στα επιθηλιακά κύτταρα η ενεργοποίηση της κασπάσης-1 αναστέλλει την πυρόπτωση μέσω μηχανισμών κυτταρικής επιδιόρθωσης.

Στην αυτοφαγία εμπλέκονται τα PMN, που εξουδετερώνουν τους μεσολαβούμενους από την αυτοφαγία αντιφλεγμονώδεις μηχανισμούς. Τα τμήματα μιτοχονδριακού (mt)DNA από την δράση των ROS -μέσω της NADPH οξειδάσης- επιταγχύνουν την αυτοφαγία και την νεκρόπτωση των ΜΦ μέσω διαφορετικών οδών. Η δέ αυτοφαγία καταστέλλει την νεκρόπτωση, και μετριάζει την επέκταση της φλεγμονής. (Fan&Fan2018) Οι μηχανισμοί γίνονται πολυπλοκότεροι όταν συμβαίνουν ταυτόχρονα ερεθίσματα και σίγουρα εκκρεμεί περαιτέρω διερεύνηση. (Fan&Fan2018, Chen L et al2019, Zhi Chen& Shan Hua 2020).

1.9.5. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Στην I/E στον πνεύμονα ως αποτέλεσμα της ιστικής βλάβης ενεργοποιείται η εγγενής και επίκτητη ανοσιακή απάντηση και το συμπλήρωμα. (Cannon 2018) Τα κύτταρα που εκκινούν την απάντηση είναι τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα και τα

δενδριτικά του ιστού όπως και τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα. Εκκρίνεται πλειάδα μεσολαβητών σε άλλοτε άλλη φάση όπως οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, TNF- α , IFN- γ), και GMCSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), έναντι των αντι-φλεγμονωδών (Sousa et al 2015). Η επικράτηση των προφλεγμονωδών έναντι των αντιφλεγμονωδών στοιχείων καθορίζει και την βλάβη του οργάνου (Zhi Chen & Shan Hua 2020). Όπως έχει καταδειχθεί και σε πειραματικά πρότυπα (Matute-Bello et al 2008) επηρεάζονται οι λειτουργίες του ενδοθηλίου, και του επιθηλίου και των κυψελιδικών μακροφάγων (Fan & Fan 2018)

Τα **μακροφάγα (M Φ)** παίζουν κύριο αρχικό ρόλο και στην φλεγμονή και τελικώς στην λύση του ALI/ARDS, είτε μη σηπτικής είτε σηπτικής αιτιολογίας. Άλλωστε αποτελούν το 95% των λευκοκυττάρων των αεροφόρων οδών (Fan & Fan 2018). Κατηγοριοποιούνται σε 2 ομάδες: M1(ο κλασικός ενεργοποιημένος φαινότυπος) και M2 (ο εναλλακτικός ενεργοποιημένος). Αρχικώς ενεργοποιούνται τα M Φ σε M1 και εκκινούν εύρος σηματοδοτικών οδών. Στην απώτερη φάση του ALI/ARDS, τα M Φ γίνονται τύπου M2, τα οποία μπορούν να επάγουν έκφραση αντιφλεγμονωδών κυττοκινών, να απομακρύνουν τα αποπτωτικά κύτταρα και τέλος να συμβάλλουν στο τελικό στάδιο(πνευμονική ίνωση). (Zhi Chen & Shan Hua 2020) Τα κυψελιδικά M Φ σε αιμορραγικό shock τρωκτικών εκφράζουν αυξημένα επίπεδα κυρίως TLR4. (Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade 2015)

Τα M Φ απελευθερώνουν TNF- α , INF- γ , IL-8 (Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade 2015) και IL-1 β , ενώ ταυτοχρόνως ενεργοποιούνται τα φλεγμονοσώματα (NLRP3). Ο σχηματισμός των φλεγμονοσωμάτων προϋποθέτει τον πολυμερισμό της πρωτεΐνης ASC και τον σχηματισμό ινιδίων κασπάσης, άρα εμπλοκής και οδών κυτταρικού θανάτου. Επιπλέον, τα M Φ επάγουν την έκφραση της πυρίνης, η οποία με την σειρά της καταστέλλει την ενεργοποίηση των φλεγμονοσωμάτων. Η ενεργοποίηση των (NLRP3) οδηγεί στην παραγωγή νέων δραστικών μορφών IL-1 β και IL-18, ανεξάρτητων από τον TNF- α και επανατροφοδότηση οδών φλεγμονής.

Το αιμορραγικό shock καταστέλλει την έκφραση της IL-10 στα M Φ , ενώ αμβλύνει την ενίσχυση (upregulation) της πυρίνης στα M Φ και τα EK. Έτσι ενισχύει εντόνως την ενεργοποίηση φλεγμονοσωμάτων και την έκκριση της IL-1 β από τους πνεύμονες επανατροφοδοτώντας την βλάβη. Η IL-1 β ουσιαστικά εκκινεί το SIRS. Εκκινεί την έκφραση κυττοκινών και χυμοκινών από τα λευκοκύτταρα και την

μετανάστευσή τους. Η IL-18 επάγει την έκφραση και την έκκριση της IFN γ και ενεργοποιεί την λειτουργία ΜΦ, Τ-κυττάρων και λοιπών της άνοσης απόκρισης. (Fan & Fan 2018).

Σε μοντέλο μεταμόσχευσης στους ανθρώπους συσχετίστηκαν τα επίπεδα των mRNA των περισσότερων TLRs με τα επίπεδα των mRNA levels των IL-1b, IL-6, IL-8, IL-10, και IFN- γ στους δότες πνεύμονες κατά την υποθερμική αποθήκευση, επιβεβαιώνοντας ότι η φλεγμονώδης απάντηση στον πνεύμονα του δότη επηρεάζει την γονιδιακή έκφραση των TLR. Ειδικώς η IL-8 βρέθηκε να ενέχεται στην γονιδιακή έκφραση του TLR-4. Στα πειραματόζωα αντίστοιχη της IL-8 είναι η CP-1 (chemoattractant protein-1 macrophage) (Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade 2015).

Το αιμορραγικό shock και η ανάταξη του επάγουν την **IL-6** και ευρεία πνευμονική βλάβη. Αντιθέτως το αιμορραγικό shock χωρίς αναζωογόνηση ή το μη αναστρέψιμο αιμορραγικό shock δεν επάγει τέτοια έκφραση. (Hierholzer et al 1998). Διαγονιδιακά ποντίκια χωρίς **IL-6** εμφάνισαν μικρότερη ALI με μικρότερη μυελοπεροξειδάση. Αναφέρεται ότι υψηλά επίπεδα της αντι-φλεγμονώδους **IL-10** μπορεί να είναι κακής προγνώσεως, αλλά δεδομένου ότι είναι ανοσοκατασταλτική η αύξησή της πιθανόν να οδηγεί σε λοιμώξεις και άρα νοσηρότητα. (Gulati 2016).

Ο TNF- α στο πνευμονικό ενδοθήλιο ενεργοποιεί τον TNFR1 με αποτέλεσμα Ca-εξαρτώμενη-αύξηση των mtROS, που με την σειρά τους ενεργοποιούν το ένζυμο (TNF- α converting enzyme/TACE) που επάγει την κατάτμηση του TNFR-1. Έτσι περιορίζει την σηματοδότηση του TNF- α και συνεπώς την έκταση της φλεγμονής στην μικροκυκλοφορία (Rowlands et al 2011). Ο **TNF- α , οι ROS, και η IL-6** ενέχονται στην ιστική βλάβη, στην κυτταρική δυσπραγία και στον θάνατο άμεσα μέσω των μεταβολών σε κυτταρικές πρωτεΐνες, λιπίδια και ριβονουκλεϊκά οξέα. Ο βαθμός της βλάβης και στον πνεύμονα είναι ανάλογος της υποάρδευσης στην μικροκυκλοφορία. Το υποξικό ενδοθήλιο αδυνατεί να διατηρήσει την ισορροπία αγγειοδιαστολής (λόγω του μειωμένου NO) και της αγγειοσύσπασης (λόγω των αυξημένων επιπέδων ενδοθηλινών 1,2,3) (Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade 2015).

Η θρομβοξάνη A₂ έχει ισχυρή αγγειοσυσπαστική δράση, επάγει παραγωγή λευκοτριενίων από τα ουδετερόφιλα, και ενεργοποιεί στα ουδετερόφιλα τους

υποδοχείς προσκόλλησης για να διευκολύνει την αλληλεπίδραση τους με το ενδοθήλιο, το οποίο επίσης ενεργοποιεί/εκφράζει μόρια προσκόλλησης λόγω της αύξησης του Ca^{2+} (Van der Kaaj 2005, Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade2015).

Αγγειοσύσπαση προκαλούν και τα **λευκοτριένια**, τα οποία μπορούν να αυξήσουν την αγγειακή διαπερατότητα, όπως επίσης να ενισχύσουν την συσσώρευση των ουδετεροφίλων, την προσκόλληση και εξαγγείωση τους μέσω του ενδοθηλίου (Van der Kaaj 2005). Παράγονται και από τα ΑΜΠ (Ovechkin 2007) Τα λευκοτριένια χωρίζονται σε 2 κατηγορίες: της κυστεϊνης (LTC₄, LTD₄, LTE₄) και της μη κυστεϊνης (LTB₄). Το LTB₄ είναι ο ισχυρός χημειοτακτικός παράγων στην LIRI και παράγεται απο μονοκύτταρα, κυψελιδικά μακροφάγα, λεμφοκύτταρα και μαστοκύτταρα (Salatti-Ferrari& Feijó-Andrade2015).

Το αρνητικό αποτέλεσμα της μείωσης της **προστακυκλίνης** είναι η ευαισθησία των αγγείων στην θρόμβωση και ο αγγειόσπασμος (Van der Kaaj 2005, Salatti-Ferrari&Feijó-Andrade2015). Οι προσταγλανδίνες έχουν και αγγειοσπαστικές και αγγειοδιασταλτικές λειτουργίες, και καθιστούν το αγγειακό ενδοθήλιο περισσότερο "διαβατό", προκαλώντας τον σχηματισμό οιδημάτων κατά την διάρκεια της βλάβης (de Perrot et al 2003, Van der Kaaj 2005, Wyker et al 2012). Δύνανται να προκαλέσουν βρογχοδιαστολή, να καταστείλουν την παραγωγή των προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF- α , IL-1, και IL-6), και τέλος να αναστείλουν την συσσώρευση αιμοπεταλίων, καθώς και την προσκόλληση λευκοκυττάρων (Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade 2015).

Η **PAF ακετυλ-υδρολάση** είναι υπεύθυνη για την αποδόμηση και την ρύθμιση της δραστηριότητας του PAF. Υψηλά επίπεδα του ενζύμου βρέθηκαν στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα σε ασθενείς με ARDS. Σε αρουραίους η πρόσθεση του ιδίου ενζύμου είχε την δυνατότητα να μειώνει την αγγειακή διαπερατότητα.

Η πρόιμη απελευθέρωση του **VEGF** (Vascular endothelial growth factor) μπορεί να αυξήσει την αγγειακή διαπερατότητα στον πνεύμονα, ενώ μείωση στην έκφραση VEGF και VEGFR-1 μπορεί να οδηγήσει και σε θάνατο του κυψελιδικού επιθηλίου. (Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade 2015)

Οι Deeb et al. απέδειξαν ότι τα ΜΦ ενεργοποιούνται πρώτα στην βλάβη I/E. Πάντως μετά τις 4hrs τα PMN προεξάρχουν ως μεσολαβητές (Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade 2015). Τα **PMN** είναι ευρέων δραστηριοτήτων πληθυσμός. Μεταναστεύουν,

φαγοκυτταρώνουν, αποκοκκιώνονται, εκκρίνουν ROS και κυτταροκίνες, απελευθερώνουν και ένζυμα και αλληλεπιδρούν με άλλους πληθυσμούς (Fan & Fan 2018). Από κλινικές και πειραματικές μελέτες έχει αποδειχθεί η συμμετοχή τους στον πνευμονικό ιστό ήδη στα πρώιμα στάδια της βλάβης, με εκσεσημασμένη συσσώρευση PMN στο υγρό του πνευμονικού οιδήματος και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (Matthay et al 2003, Matute-Bello et al 2008).

Οι οξειδωτικοί μεσολαβητές από τα PMN διαμεσολαβούν την αντίδραση PMN και EK του πνεύμονος και ανατροφοδοτούν (upregulate) την έκφραση των TLR2 σε αυτά μέσω TLR4-σηματοδότησης (Fan & Fan 2018). Η μικροαγγειακή διαπερατότητα θεωρείται αρχικώς ανεξάρτητη από τα PMN και σε αψότερο χρόνο διαμεσολαβούμενη από τα PMN. Η απομάκρυνση "sequestration" των λευκοκυττάρων στους πνεύμονες έχει ιδιαιτερότητα εν σχέσει με τους άλλους ιστούς. Η μετισταμική PMN-προσκόλληση και μετανάστευση συμβαίνει πρωτίστως στα κυψελιδικά τριχοειδή και σε μικρότερο βαθμό στα αρτηριόλια (σχήμα 10) (Ovechkin et al 2007).

Επίσης νωρίς εμπλέκονται τα AMΠ και συμβάλλουν στην πνευμονική βλάβη μέσω των θρόμβων και των αλληλεπιδράσεων με EK και PMN. Τα ROS, η καταστροφή του ενδοθηλίου, οι κυτταροκίνες προάγουν την προσκόλληση των AMΠ στο αγγειακό τοίχωμα.

Η P-selectin εκφράζεται στην επιφάνεια AMΠ και EK και οδηγεί σε προσκόλληση AMΠ-EK. Αφαίρεση των AMΠ, μείωσε την κύλιση των PMN και την συσσώρευση στους μετισταμικούς ιστούς (σχήμα 10) (Ovechkin et al 2007). Έχει διφασική έκφραση. Αρχικά εντός λεπτών εμφανίζεται σε AMΠ και EK, καθώς αυτά τα κύτταρα ενεργοποιούνται από θρομβίνη, ισταμίνη, υποξία, H₂O₂ και διαρκεί λίγο με αιχμή στα 10min και επιστρέφει στα βασικά επίπεδα στις 3hrs. Ακολουθεί επιπλέον σύνθεση μέσα σε 2hrs, αλλά λόγω των κυτταροκινών, της θρομβίνης, του TNF- α , και των ROS. (Ovechkin et al 2007).

Η L-selectin στα PMN του πνεύμονος εκφράζεται 2 hrs μετά την έναρξη της αναζωογόνησης και όταν αυτή γίνεται με LR αντί για υπέρτονα. Πάντως σταθερά παρατηρείται ισχνή έκφραση E-selectin στον πνεύμονα ανεξαρτήτως υγρού αναζωογόνησης. Η αναζωογόνηση με ολικό αίμα είχε ήδη αποδειχθεί ανώτερη καθότι αποδίδει μικρότερη έκφραση μορίων προσκόλλησης από τα υπέρτονα ή το LR (Martinez-Mier 2001).

Η αναστολή της δράσης των μορίων προσκόλλησης όπως των Eselectin, P-selectin, ICAM-1 και CD18 έχει αποδειχθεί ευεργετική σε πειραματικά μοντέλα I/E (μείωση της πνευμονικής ιστικής βλάβης) (Ovechkin et al 2007). Η επίδραση σηπτικού παράγοντα (LPS) συμβαδίζει με εντονότερη έκφραση μορίων προσκόλλησης και μεγαλύτερη βλάβη (Martinez-Mier 2001). Η αναστολή της L-selectin για την πρόληψη της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων φαίνεται να ωφελεί όταν εφαρμόζεται ώρες μετά την αναζωογόνηση (Ovechkin et al 2007). Η ενίσχυση της έκφρασης των ICAM-1 μετά από λιποτοξίνη ή και πεπτιδογλυκάνη προάγει την μετανάστευση στους πνεύμονες και την βλάβη (Fan & Fan 2018).

1.9.6. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

Η αυξημένη διαπερατότητα εκδηλώνεται κλινικώς με πνευμονικό οίδημα .

Λόγω της έκθεσης σε προφλεγμονώδεις παράγοντες ενεργοποιείται το πνευμονικό ενδοθήλιο, το οποίο μεταβάλλει την αγγειακή διαπερατότητα, εκφράζει μόρια προσκόλλησης των ουδετεροφίλων κυττάρων, διαταράσσει τον τόνο των αγγείων, κινητοποιεί μηχανισμούς πήξης ενεργοποιεί τα μόρια άνοσης απόκρισης και την παραγωγή κυττοκινών-χυμοκινών, ευθύνεται για την παραγωγή των ROS, για την παραγωγή αυξητικών παραγόντων και την αγγειογένεση (Vasiliou et al 2020, Incalza et al 2018). Όταν επικρατήσουν οι προφλεγμονώδεις παράγοντες έναντι των αντιφλεγμονωδών επέρχεται λειτουργική και δομική βλάβη του και εκδηλώνεται η δυσλειτουργία. (Incalza et al 2018, Weyker et al 2012). Κατά την επαναιμάτωση μπορεί να συμβεί “no re-flow” φαινόμενο. Η ενεργοποίηση λευκοκυττάρων, ΑΜΠ, και συμπληρώματος οδηγεί μέσω διαταραχής της αγγειοδιαστολής σε μειωμένη ροή στην μικροκυκλοφορία και δυσλειτουργία του οργάνου (Weyker et al 2012).

1.9.7.Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΓΛΥΚΟΚΑΛΥΚΟΣ

Ο γλυκοκάλυκας των πνευμονικών αγγείων διαφέρει από αυτόν της λοιπής κυκλοφορίας καθώς είναι παχύτερος, εξυπηρετώντας την οικονομία του οργάνου στην αποφυγή του διάμεσου οιδήματος και της συσσώρευσης λευκοκυττάρων. Επιπρόσθετη ετερογένεια παρατηρείται και εντός των τμημάτων του πνεύμονα, απηχώντας διαφορές των γλυκοζαμινογλυκανών στην πνευμονική λειτουργία. Ο επιθηλιακός γλυκοκάλυκας εμπεριέχειθειϊκές ηπαράνη και χονδροϊτίνη. Μεγάλη ποικιλία όμως μελέτης του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκος (ΕΓΚ) μετά πνευμονική I/E δεν υπάρχει, ενώ υπάρχουν αναφορές για την ενδοθηλιακή βλάβη στην σήψη και την πρωιμότητα της βλάβης του πνευμονικού ενδοθηλίου στην σήψη και την πολυοργανική ανεπάρκεια και άρα την σημασία της μελέτης τους.

Η αποδόμηση του γλυκοκάλυκος συμβάλλει στην υψηλή θνησιμότητα και νοσηρότητα της βλάβης της I/E. Στα μοντέλα αυτομεταμόσχευσης έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα συνδεκάνης-1 και ηπαράνης, σημειώνοντας την βλάβη του ΕΓΚ. (Abassi et al 2020)

Η βλάβη του ΕΓΚ του πνεύμονα έχει μελετηθεί σε καρδιαγγειακές επεμβάσεις (καρδιοπνευμονική παράκαμψη, ανευρύσματα κοιλιακής αορτής κάτωθεν των νεφρικών). Έχει παρατηρηθεί μείωση του πάχους του ΕΓΚ και υψηλά επίπεδα συνδεκάνης-1 και ηπαράνης, τα οποία θεωρήθηκαν απότοκα της βαρείας βλάβης της γενικευμένης ισχαιμίας στα χειρουργεία αυτά. Η βλάβη I/E στις επεμβάσεις αυτές θεωρείται βαρύτερη. Τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα με τα ένζυμα που εκκρίνουν (Abassi et al 2020) και με την έκφραση μορίων προσκόλλησης προκαλούν βλάβη του πνεύμονος και ομοίως του ΕΓΚ. Το νατριουρητικό πεπτίδιο κόλπου (ANP), το οποίο ενεργοποιεί μεταλλοπρωτεϊνάσες, επίσης ενοχοποιείται ως μηχανισμός (Brettner et al 2017). Σημειώνεται ότι διάχυτη βλάβη στους πνεύμονες έχει συνδυαστεί με αυξημένα επίπεδα ηπαράνης σε βιοψίες ανθρώπων (Abassi et al 2020).

Ο ρόλος του ΕΓΚ ως στόχου θεραπείας ή πρόληψης στην πνευμονική βλάβη στην Επείγουσα Ιατρική και κατ' επέκταση στο ARDS έχει διαφανεί από τα πειραματικά δεδομένα.

Σε πειραματικά μοντέλα έχει βεβαιωθεί η περιγραφείσα δράση του ANP, η προστατευτική δράση πτητικών αναισθητικών (σεβοφλουρανίου) και της φλαβονοειδούς ουσίας Astilbin. Με το σεβοφλουράνιο έχει αποδειχθεί η μικρότερη έκφραση μορίων προσκόλλησης και η λιγότερη κατάτμηση του ΕΓΚ. Αρα ορθώς αξιοποιείται στο περιβάλλον της Αναισθησιολογίας και όπου εφαρμόζεται στην καθημερινή κλινική πρακτική το μοντέλο I/E.

Η Astilbin σε σηπτικό μοντέλο επιτυγχάνει να προστατεύσει τον ΕΓΚ του πνεύμονα και να μειώσει την εμφάνιση ARDS μέσω MAPK οδού όπως φάνηκε στα μικρότερα επίπεδα ηπαράνωσης μυελοπεροξειδάσης.

Η υπερογκαιμία από οιοδήποτε αίτιο, άρα και αυτή κατά την αναζωογόνηση και επαναιμάτωση δύναται να αποδομήσει ΕΓΚ, εξ ου και συστήνεται εκτός από τον προστατευτικό αερισμό και το προσεκτικό monitoring χορήγησης υγρών και συνεπώς ο εξοπλισμός, η εκπαίδευση αλλά και η έρευνα για ένα ακόμη προσφορότερο μέσο (Brettner et al 2017).

1.9.8. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΟΥ ΜΕ ΤΟ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ ACE

Το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης εκτός από τις συστηματικές δράσεις έχει και πολύ σημαντικές τοπικώς στον πνεύμονα και στην βλάβη. Το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης (ACE) υδρολύει την αγγειοτενσίνη I σε αγγειοτενσίνη II (AngII) και αποδομεί την βραδυκινίνη. Το συνδεδεμένο με το πνευμονικό ενδοθήλιο (pulmonary endothelial bound ACE/PCEB-ACE) έχει κεντρικό ρόλο στην διατήρηση επαρκούς τοπικής και συστηματικής ομοιόστασης, και στην δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ ενδοθηλιακού κυττάρου (ΕΚ) και άλλων τύπων κυττάρων. Η αγγειοτενσίνη προκαλεί σύσπαση των λείων μυϊκών ινών (ΛΜΙ), πολλαπλασιασμό και ανάπτυξη τους. (Orfanos et al 2004). Η AngII έχει επιπρόσθετες προφλεγμονώδεις δράσεις: μέσω του υποδοχέα της αγγειοτενσίνης I (angiotensin receptor 1/AT1) επάγει την έκφραση των IL-1, IL-6, IL-8, των μορίων προσκόλλησης (ICAM-1 και VCAM-1) και επάγει μεταγραφή του NF-κΒ. Αντιθέτως η επαγωγή του υποδοχέα (AT2) συνδέεται κυρίως με αντιφλεγμονώδεις δράσεις όπως μείωση της IL-6 και του NF-κΒ, και αύξηση της έκφρασης της IL-10

(Unger and Stoppelhaar, 2007 με βιβλιογραφική αναφορά στους Maniatis et al 2008). Η βραδυκίνητη έχει αγγειοδιασταλτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιθρομβωτικές δράσεις μέσω διέγερσης των ενδοθηλιακών B₂ υποδοχέων της κινίνης, προκαλώντας τη σύνθεση και απελευθέρωση παραγόντων όπως το NO και η προστακυκλίνη(PGI₂) (Gulati 2017).

Η παρακολούθηση (monitoring) του PCEB-ACE δίνει πλήρεις και αξιόπιστες πληροφορίες λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης του ενζύμου στα τριχοειδή της πνευμονικής κυκλοφορίας. Η δραστηριότητα του ενζύμου μειώνεται πρώιμως σε ALI, συσχετίζεται με την κλινική βαρύτητα της πνευμονικής βλάβης και με την υποκείμενη νόσο, οπότε μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ποσοτικός και ευαίσθητος δείκτης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και εκτίμησης της λειτουργικής τριχοειδικής επιφάνειας τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ασθενείς (Orfanos et al., 1999, Vasiliou et al 2020). Δείκτες που απεικονίζουν την δραστηριότητα ανά τριχοειδές και την λειτουργική τριχοειδική επιφάνεια (functional capillary surface area /FCSA) όπως η Amax/Km μειώθηκαν νωρίς κατά την πορεία του ALI/ARDS και ήταν αντιστρόφως ανάλογοι της βαθμολογίας βαρύτητας(Lung Injury Scores), συνδέοντας έτσι την κλινική βαρύτητα και την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Σε χρόνιες νόσους με πνευμονική συμμετοχή όπως η σκλήρυνση και η πνευμονική υπέρταση επίσης μειώνεται η δραστηριότητα του PCEB-ACE, καταδεικνύοντας ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. (Langleben et al, 2008, Orfanos et al, 2001 με βιβλιογραφική αναφορά στους Maniatis et al 2008).

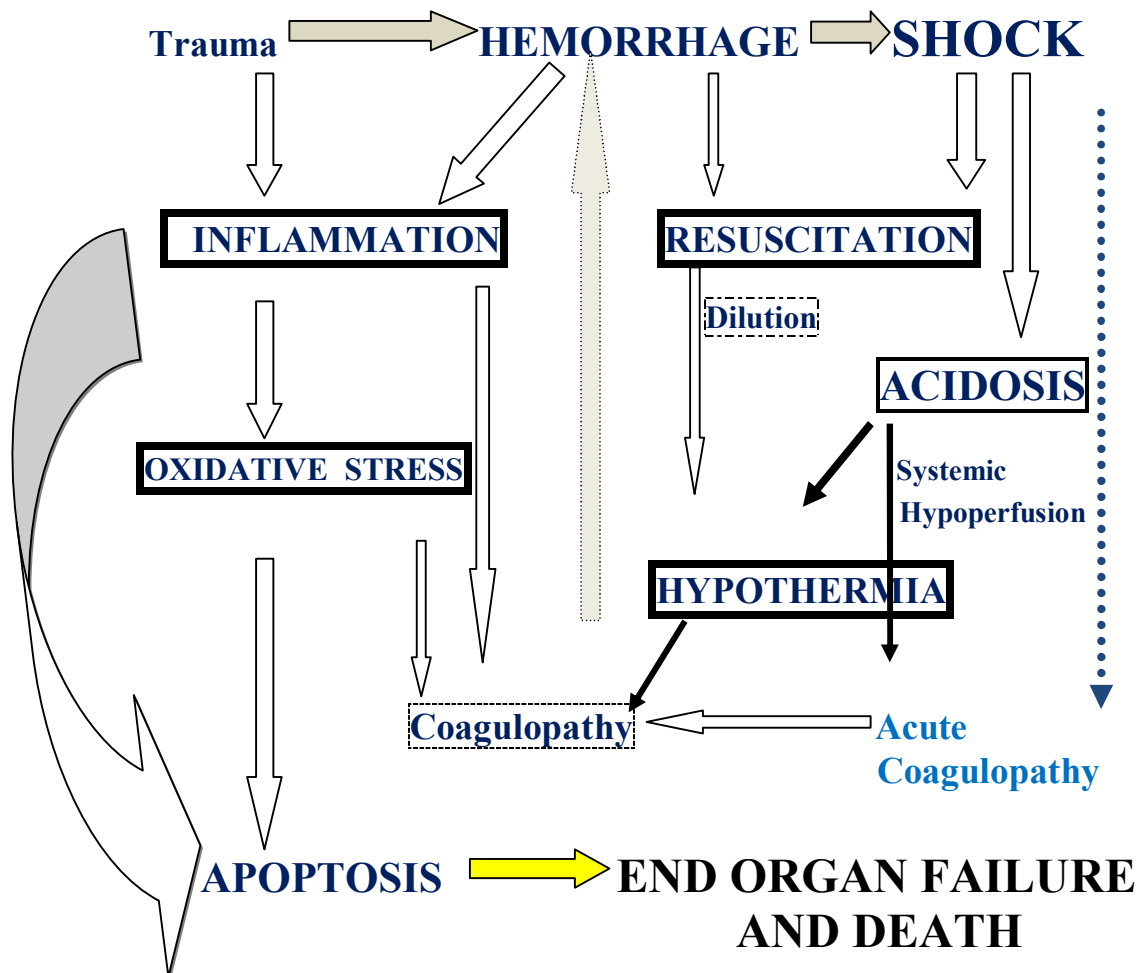
Μάλιστα σε διάφορα ζωικά μοντέλα ALI απεδείχθη η χρησιμότητα της μεθόδου καθώς απέδειξε και ότι η ελάττωση της δραστηριότητας του PCEB-ACE είναι ένα από τα πρωϊμότερα σημεία πνευμονικής ενδοθηλιακής βλάβης, που προηγείται των αλλαγών σε παραμέτρους όπως η οξεοβασική ισορροπία, η ανταλλαγή αερίων, οι αιμοδυναμικοί παράμετροι, η αυξημένη διαπερατότητα και οι μορφολογικές αλλαγές στο επίπεδο μικροσκοπίου και ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (Orfanos et al 2004). Όσον αφορά το διαλυτό στο πλάσμα ACE (solubleACE/sACE), η δραστηριότητα του ελαττώνεται σε ασθενείς με ARDS. Όμως σε αντίθεση με το PCEB-ACE, η δραστηριότητα του sACE είναι ένας έμμεσος δείκτης (Casey 1982 με βιβλιογραφική αναφορά στους Orfanos et al 2004).

Το ACE και η αγγειοτενσίνη II (Ang II) διευκολύνουν την πνευμονική βλάβη, η οποία αμβλύνεται από τους αναστολείς ACE ή και από την αναστολή των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης AT1. Αρχικώς ηχεί παράδοξο, καθόσον η πτώση της δραστηριότητας του PCEB-ACE απεδείχθη ανάλογη της βλάβης σε ανθρώπους και πειραματόζωα, αλλά δεν είναι. Η αγγειοτενσίνη II μπορεί να δημιουργήσει $O_2^{\cdot-}$ μέσω της ενεργοποίησης των NADH/NADPH οξειδασών στα ΕΚ και στις ΛΜΙ. (Linz et al, 1999 με βιβλιογραφική αναφορά στους Maniatis et al 2008). Τα ανιόντα του υπεροξειδίου αλληλεπιδρούν με το NO για την παραγωγή του περοξυνιτρίτη (ONOO⁻), ενώ οι μεταβολίτες του από διάφορες πηγές μπορεί να προκαλέσουν μοριακή και κυτταρική βλάβη και να ελαττώσουν την δραστικότητα του ACE. Είναι πιθανό η ελάττωση της δραστικότητας του PCEB-ACE, που παρατηρείται στο ALI, να σχετίζεται με την προς τα κάτω ρύθμιση (down-regulation) των ενζύμων, με στόχο την σχετική ελάττωση των προφλεγμονωδών αντιδράσεων στο περιβάλλον της μικροκυκλοφορίας. Κατ' επέκταση μειώσεις του PCEB-ACE μπορούν να εξηγηθούν από δριμείες απώλειες ενδοθηλίου, ενώ βιώσιμα κ' λειτουργικά ΕΚ διατηρούν ή και υπερ-εκφράζουν ACE, συμβάλλοντας στην τοπική φλεγμονώδη απάντηση (Maniatis et al 2008).

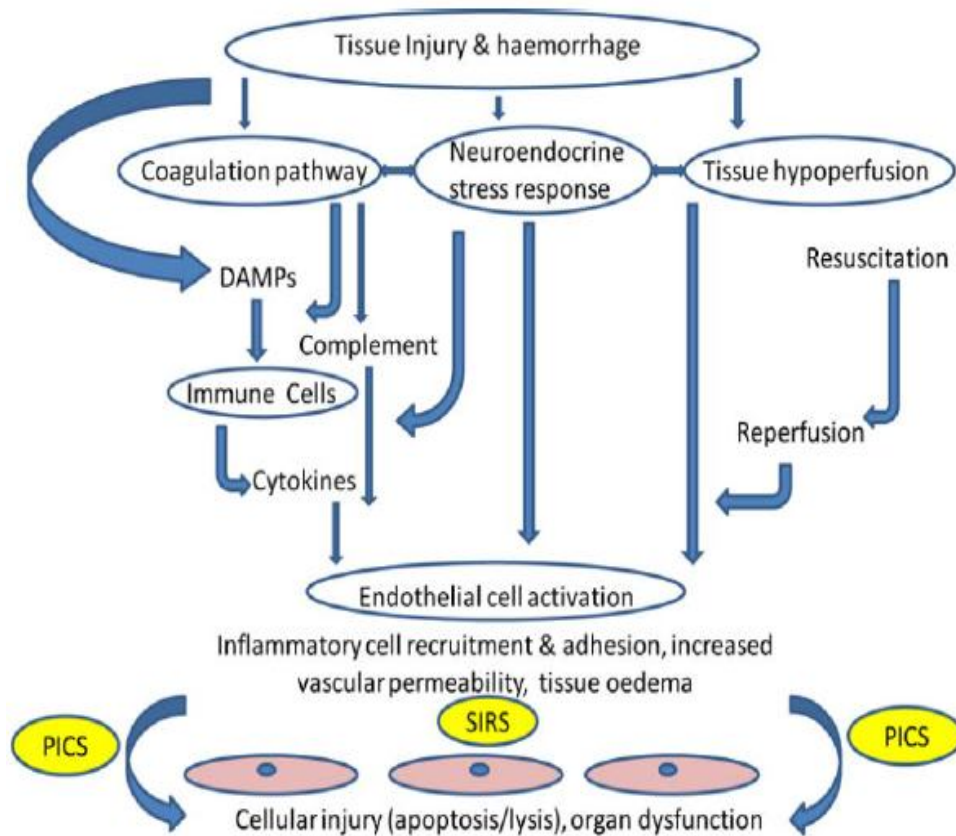
1.9.9. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ

Το φυσιολογικό κυψελιδικό επιθήλιο αποτελείται από δύο τύπους κυττάρων: 1. τα επιπεδωμένα, τύπου I κύτταρα, που καλύπτουν το 90% της κυψελιδικής επιφάνειας και εύκολα υφίστανται βλάβη και 2. τα κυβοειδή, τύπου II κύτταρα που αντιστοιχούν στο υπόλοιπο 10%. Θεωρούνται περισσότερο ανθεκτικά, σχετίζονται με την παραγωγή του επιφανειοδραστικού παράγοντα, την ανταλλαγή ιόντων, ενώ χαρακτηρίζονται από την δυνατότητα πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης σε κύτταρα τύπου I μετά από βλαπτικό ερέθισμα (Ware and Matthay 2000). Στην ALI - όπως έχει διαπιστωθεί και σε πειραματικά μοντέλα- υφίσταται απώλεια της επιθηλιακής ακεραιότητας, πλήρωση των κυψελιδών με φλεγμονώδη στοιχεία και κύτταρα, μείωση παραγωγής και της λειτουργικότητας του επιφανειοδραστικού παράγοντα. (Ware and Matthay 2000, Laubach&Sharma 2016)

Ο ενδογενής επιφανειοδραστικός παράγοντας (surfactant), η ενδοθηλιακή και η επιθηλιακή μεμβράνη, με τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου AT II, καταστρέφονται από την αύξηση του ενδοκυττάρου Ca^{2+} , του Na^+ και τον σχηματισμό 1) ROS, 2) εικοσανοϊδών, 3) πρωτεολυτικών ενζύμων και 4) φωσφολιπασών. Όταν όμως ο surfactant είτε χάνεται, είτε αδρανοποιείται, λόγω της αυξανόμενης ενδοθηλιακής διαπερατότητας από την βλάβη I/E (LIRI), τότε διευκολύνεται η περαιτέρω εισροή πρωτεϊνών στη κυψελίδα, η οποία τον οδηγεί σε έναν αυτοενεργοποιούμενο (self-triggering) μηχανισμό αδρανοποίησης (Matthay et al 2003, van der Kaaij 2005). Η βλάβη του κυψελιδικού επιθηλίου του πνεύμονα αποτελεί σημαντικό δείκτη πρόγνωσης της βλάβης (Matthay et al 2003, van der Kaaij 2005).



Σχήμα 11. Καταρράκτης επιπλοκών ανάταξης της αιμορραγικής καταπληξίας που οδηγεί σε πολυοργανική ανεπάρκεια. (Gulati 2016)



Σχήμα 12. Πρόκληση του SIRS από την ιστική βλάβη και την αιμορραγία και η επακόλουθη πολυοργανική ανεπάρκεια. Απώλεια της ενδοθηλιακής ακεραιότητας μπορεί να προκύψει από ιστική υποάρδευση, ενεργοποίηση του πήκτικού μηχανισμού και νευροενδοκρινική απάντηση, υποβοηθώντας χημικούς και κυτταρικούς παράγοντες καταστροφής ιστών σε απομακρυσμένα σημεία. (Lord et al Lancet 2014)

1.10.ΠΟΛΥΟΡΓΑΝΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

1.10.1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η εξέλιξη της συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης του οργανισμού (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS), προς το δυνητικά ανατάξιμο σύνδρομο πολυοργανικής δυσλειτουργίας (Multiple Organ Dysfunction Syndrome/MODS) ή προς την πολυοργανική ανεπάρκεια (Multiple Organ Failure/MOF), εξαρτάται από ποικιλία παραγόντων, που επιδρούν στην πορεία του

shock σε ατομική βάση, όπως ο βαθμός και η διάρκεια της υποογκαιμίας και της αιμορραγίας, η επιτυχής αρχική ανάταξη της καταπληξίας, ο χειρουργικός έλεγχος της απώλειας αίματος, η μετάγγιση τις πρώτες 12ώρες και βέβαια οι προϋπάρχουσες νόσοι και το φύλο (Cannon 2018, Sauia et al 2017).

1.9.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Στο τραύμα η MOF μπορεί να προκαλέσει το 51-61% των θανάτων. Ακόμη και επιβιώσαντες από αιμορραγικό shock έχουν ισχυρή πιθανότητα κακής έκβασης με σήψη και πολυοργανική ανεπάρκεια, αν και οι πρόοδοι στην θεραπεία είναι αλματώδεις. Η θνησιμότητα παραμένει στο 30% (Levy MM et al 2010). Το όργανο που βλάπτεται συχνότερα είναι ο πνεύμονας (Fan & Fan 2018), με το ARDS να αποτελεί το 50%-80% των θανάτων από πολυοργανική ανεπάρκεια στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας. Ευθύνεται για τεράστια νοσηρότητα, χρόνους ενδονοσοκομειακής νοσηλείας, απωλεσθείσες εργατοώρες στους επιζώντες ασθενείς και σαφώς επιβαρύνει τους προϋπολογισμούς της υγείας (Sauia et al 2017, Thompson et al 2018). Σε 5 ηπείρους και 459 ΜΕΘ διαπιστώθηκε ότι το ARDS ακόμη υποεκτιμάται, άρα και ακόμη υποθεραπεύεται, ενώ αντιπροσώπευε το 10.4% των εισαγωγών και το 23,4% όλων των ασθενών που έχρηζαν μηχανικού αερισμού.

Η επίπτωση του ήπιου ARDS ήταν 30.0%, του μεσαίου 46.6% και του σοβαρού 23.4%. Η νοσοκομειακή θνησιμότητα στην πολυκεντρική αυτή μελέτη ήταν 40.0%, ενώ της ΜΕΘ 35.3%, ποσοστά δυσθεώρητα (Bellani et al 2016) για την Φροντίδα Υγείας. Επιπροσθέτως επιβαρυντικό γιά τα οικονομικά υγείας είναι το εύρημα βαθμού πνευμονικής υπέρτασης πρωΐμως (με την διάγνωση του συνδρόμου). Οι μεγαλύτερες ηλικίες υφίστανται μεγαλύτερη ενδονοσοκομειακή παραμονή με συνεχή επιβάρυνση φυσικής κατάστασης ακόμη και μετά την έξοδο και απώλεια μυϊκής μάζης με καταστροφικές απώτερες επιπτώσεις ποιότητας υγείας. Οι κατευθύνσεις αντιμετώπισης συνεχώς ανανεώνονται. Η ασφαλέστερη επιλογή είναι η πρόληψη του συνδρόμου (Menk et al 2020). Ενώ πλειάδα δεικτών απαντάται γιά την κάθε φάση του, ασφαλείς και μοναδικοί δείκτες ανά φάση της νόσου δεν υπάρχουν (Spadaro et al 2018).

1.10.3.Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΝΑΤΑΞΕΩΣ ΤΟΥ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟΥ SHOCK ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ MODS

Τα αίτια εμφάνισης πολυοργανικής ανεπάρκειας είναι πολύπλοκα, αναδεικνύοντας την ανάγκη της συνεχιζόμενης έρευνας και της εκπαίδευσης.

Στα **σχήματα 11 και 12** πολύ αδρά απεικονίζονται μηχανισμοί πρόκλησης. Η αιμορραγία και η ανάταξη της προκαλούν πολυοργανική ανεπάρκεια μέσω φλεγμονωδών διαδικασιών, οξειδωτικού stress, διαταραχών πήκτικότητας και ο κυτταρικού θανάτου που ανατροφοδοτούνται (Gulati 2016) μέσω διαφόρων μεσολαβητών (Lord et al 2014). Σε κυτταρικό επίπεδο προκαλείται μιτοχονδριακή ανεπάρκεια, ενεργειακή έκπτωση ή και κυτταρική βλάβη. Εάν προστεθεί στην πορεία της νόσου σηπτικός παράγων οι μηχανισμοί γίνονται πολυπλοκότεροι (Jarrar et al 1999, Tores-Fihlo 2018), και η ανάταξη επίσης. Δεδομένου ότι ο θάνατος από αιμορραγία άνευ αντιμετώπισης επέρχεται σε 2-3hrs και η ανάταξη είναι εξίσου δύσκολη, το θεραπευτικό παράθυρο είναι στενό (Chang & Holcomb 2017).

Το ενδοθήλιο είναι το πρώτο όργανο που ενεργοποιείται και δυσλειτουργεί και είναι κοινός τόπος στην πνευμονική βλάβη, στην σήψη, σε προϋπάρχουσες συστηματικές νόσους που επιπροστίθενται, στην ισχαιμία/επαναιμάτωση ενός οργάνου πρωτογενώς ή δευτερογενώς (Leeuwen et al 2020, Hutchings et al 2018).

Μαζί με τα στοιχεία του αίματος αποτελεί ενιαίο σύστημα, οπότε πρόκειται για συνολική ανεπάρκεια (Bjerkvig et al 2016). Σαφώς ο ρόλος του έχει αποδειχθεί ότι είναι πρώιμος και στην πολυοργανική ανεπάρκεια. Άρα είναι επόμενο να είναι κύριος θεραπευτικός στόχος (Leeuwen et al 2020, Hutchings et al 2018, Astapenko et al 2019-2020).

Όσον αφορά την I/E του πνεύμονος και η ίδια προκαλεί συστηματικά αποτελέσματα με απότοκο την εμφάνιση πολυοργανικής ανεπάρκειας. Επάγει απομάκρυνση (sequestration) PMN από την καρδιά και το ήπαρ και προκαλεί την εκ των PMN απελευθέρωση ROS στην κυκλοφορία.

Σημειώνεται ότι η συστηματική επαναιμάτωση όπως στην ανάταξη του shock προκαλεί μεγαλύτερη βλάβη από όποια συστηματική βλάβη προκαλέσει η επαναιμάτωση ενός μόνο οργάνου. Όταν όμως το όργανο που επαναιματώνεται είναι το έντερο, οι πειραματικές μελέτες απέδειξαν ότι η βλάβη της I/E του πνεύμονος είναι

κορυφαία και η πολυοργανική ανεπάρκεια επίσης (Salatti-Ferrari & Feijó-Andrade 2015).

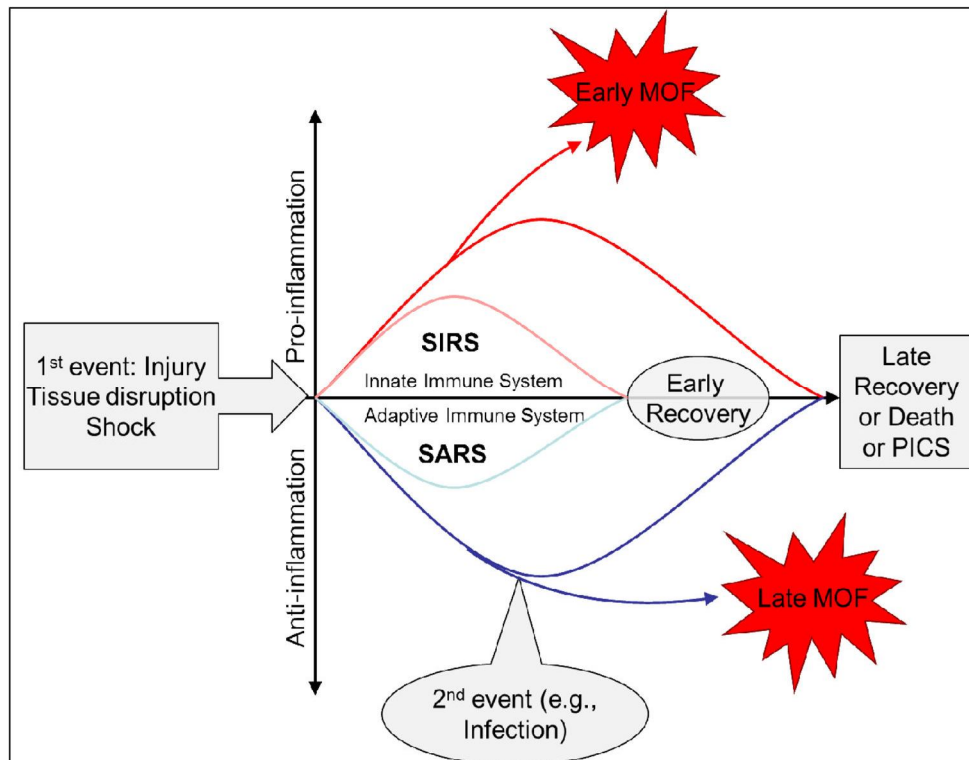
1.10.4.ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ MODS

Η πολυοργανική ανεπάρκεια διακρίνεται σε πρώιμη MOF -έως την 3^η ημέρα- και όψιμη μετά την 3^η ημέρα. Η MODS της μετατραυματικής περιόδου είναι η οργανική δυσλειτουργία των πρώτων 48ωρών και είναι διαφορετική από την MOF. Αποτελεί συχνό απότοκο της αναζωογόνησης και με ενδεδειγμένη αντιμετώπιση λύνεται μετά το 48ωρο (Dewar et al 2013).

Αμέσως μετά την αιμορραγία και την σοβαρή βλάβη και μέσα σε λεπτά ή ημέρες υπερεκφράζονται αντιφλεγμονώδη και προφλεγμονώδη γονίδια της εγγενούς ανοσίας και καταστέλλεται η έκφραση γονιδίων της επίκτητης. Δηλαδή ταυτοχρόνως με το SIRS άρχεται και η παρατεινόμενη ανοσοπαράλυση CARS (Compensatory anti-inflammatory syndrome). Το σοβαρότερο SIRS (ενεργοποίηση της εγγενούς ανοσιακής απάντησης) προκαλεί οργανική δυσπραγία, ενώ η πρώιμη αντιφλεγμονώδης δραστηριότητα - μέσω αναστολής της επίκτητης ανοσίας και της απόπτωσης- περιορίζει την προφλεγμονώδη δραστηριότητα, και δημιουργεί τις συνθήκες προστασίας σε 2^ο κτύπημα. Η επίμονη αντιφλεγμονώδης δραστηριότητα οδηγεί στο σύνδρομο της σοβαρής συστηματικής αντιφλεγμονώδους απάντησης το SARS (severe systemic anti-inflammatory response syndrome) (Xiao W et al 2011).

Σε ασθενείς ικανούς να αντιπαρέλθουν αυτά τα σύνδρομα μέσα σε μέρες ή εβδομάδες ακολουθεί περίοδος ανάρρωσης. Σε αυτούς τους ασθενείς όπου η δυσαρμονία θα συνεχίσει >14ημερών θα παρατηρηθεί το χρόνιο καταβολικό σύνδρομο (Persistent inflammation, immunosuppression and catabolism syndrome/PICS), που ευθύνεται για την απώλεια μυϊκής μάζας, τις λοιμώξεις, την καθυστερημένη/απώτερη MODS/MOF και τον θάνατο από απώτερες επιπλοκές (Tompkins 2015) **Σχήμα 13.**

Κλινικά ορίζεται ως η μακρά παραμονή στην ΜΕΘ(>14ημέρες), συνδυασμός με επίμονους δείκτες φλεγμονής (CRP>150 μg/dl και ρετινόλη RBP<10μg/dl), ανοσοκαταστολή (λεμφοκύτταρα <800/mm³), και καταβολής (αλβουμίνη ορού <3.0 mg/dl, δείκτης κρεατινίνης <80%, και απώλεια βάρους > 10% ή BMI<18 kg/m² στην παρούσα νοσηλεία) (Sauia et al 2017).



Σχήμα 13. Μοντέλο εξέλιξης στο καταβολικό σύνδρομο. (Persistent inflammation, immunosuppression and catabolism syndrome/PICS). (Πηγή: Sauia et al 2017).

1.11.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΒΛΑΒΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ-ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΕΩΣ

Η βλάβη Ισχαιμίας/Επαναιμάτωσης του πνεύμονα απεδείχθη είναι σύμπλοκο φαινόμενο διότι η αιμάτωση είναι από δύο πηγές, την πνευμονική κυκλοφορία και την βρογχική κυκλοφορία. Επιπλέον εξαρτάται από την έκπτυξη του πνεύμονος (η διατήρηση έκπτυξης μειώνει την βλάβη), την έκταση των αγγειακών δικτύων που ισχαιμούν και την διάρκεια της ισχαιμίας, αλλά και την διάρκεια της επαναιμάτωσης, όπως και το είδος του πειραματοζώου (προτιμητέοι και πίο μελετημένοι είναι οι κόνικλοι) (Matute-Bello et al 2008). Την βλάβη επηρεάζει ο αερισμός κατά την φάση της ισχαιμίας, δεδομένου ότι στον πνεύμονα διακοπή ροής δεν σημαίνει και υποξία (dePerrot et al 2004).

Για την μελέτη της βλάβης I/E έχουν αναπτυχθεί μοντέλα που προσομοιάζουν στην μεταμόσχευση πνευμόνων και έτερα πνευμονικής βλάβης εξ επαναιμάτωσης απομεμακρυσμένων αγγειακών δικτύων (Matute-Bello et al 2008).

Για την πρώτη περίπτωση χρησιμοποιούνται τρεις σημαντικοί τύποι ζωϊκών προτύπων: 1. το απομονωμένο σύστημα ex vivo άρδευσης πνευμόνων, που ως ex vivo διαταράσσει τις φυσιολογικές αλληλεπιδράσεις στο σύστημα. 2. το πρότυπο μεταμόσχευσης και των δύο πνευμόνων, και 3. η in situ θερμή ισχαιμία πνεύμονος. (Van der Kaaj 2005).

Το πρότυπο μεταμόσχευσης και των δύο πνευμόνων έχει χρησιμοποιηθεί για την μελέτη των μεταμοσχεύσεων. Έχουν αναπτυχθεί τα μοντέλα ψυχρής και θερμής ισχαιμίας.

Το μοντέλο ψυχρής ισχαιμίας συνοδεύεται με συχνά υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, πέραν των τεχνικών δυσκολιών.

Στο μοντέλο της θερμής ισχαιμίας η ισχαιμία προκαλείται με την προσωρινή απόφραξη της πνευμονικής αρτηρίας, φλεβός και του βρόγχου συνήθως του αριστερού πνεύμονα. Ο χρόνος κυμαίνεται γενικά από 60 έως 120 λεπτά (van der Kaaj 2005). Προτιμώνται τα μικρά τρωκτικά για τεχνικούς λόγους. Όμως η θερμή ισχαιμία

συνοδεύεται από υψηλό μεταβολικό ρυθμό. Επιπλέον, λόγω των συχνά μακρών θερμών ισχαιμικών περιόδων, η βλάβη της επαναιμάτωσης είναι σοβαρότερη με συνέπεια την ακόμα υψηλότερη θνησιμότητα. Κατά συνέπεια, οι περισσότερες μελέτες ερευνούν ακόμα τα μικρά χρονικά διαστήματα (έως 6 ώρες) μετά από την έναρξη της επαναιμάτωσης. Μόνο μερικές μελέτες αναφέρουν χρόνους περίπου 1 εβδομάδας (Van der Kaaj 2005) και συνοδεύονται από υψηλή θνησιμότητα.

Στην δεύτερη περίπτωση πνευμονικής βλάβης ανήκει η επαναιμάτωση μετά από αιμορραγικό shock ή μετά από αποκλεισμό μέλους ή μεγάλου αγγείου. Η βλάβη του πνεύμονα απεδείχθη βλάβη και των επιθηλιακών και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η δέ βαρύτητα της ισχαιμίας εξαρτάται από την ποσότητα του αίματος (όσο περισσότερος ο αφαιμαχθείς όγκος τόσο μεγαλύτερη). Το παρόν μοντέλο αντιστοιχεί σε μοντέλο θερμής ισχαιμίας και μεγάλου όγκου αίματος.

Έχουν εφαρμοσθεί περίοδοι ισχαιμίας 30-120 min που κλινικά συνοδεύονται από αιμοδυναμική έκπτωση με υπόταση, μεταβολική οξέωση, υποδυναμική κυκλοφορία, και συσσώρευση ουδετεροφύλων. Ξεκινά περίπου στα 90 min της επαναιμάτωσης και ακολουθείται από αύξηση της πνευμονικής διαπερατότητας για μία ώρα με αιχμή τις 4-6hrs (Matute-Bello et al 2008).

1.12. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΤΑΞΗΣ

Στις τελευταίες δεκαετίες, εκτενείς προσπάθειες έχουν καταβληθεί να ευρεθεί μοντέλλο με μέγιστη επαναληψιμότητα και τυποποίηση για την διευκρίνιση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών και ανοσοποιητικών αλλαγών που συνδέονται με την αιμορραγική καταπληξία και την θεραπευτική αντιμετώπιση με γνώμονα την επιβίωση χωρίς απώτερες επιπλοκές. Όπως αναφέρθη ανωτέρω το χρέος O₂ που

δημιουργείται στον αιμορραγούντα ασθενή είναι κορυφαία πρόκληση και τα πειραματικά μοντέλα που έχουν χρησιμοποιηθεί δεν δύνανται να αποτυπώσουν πλήρως την κλινική εικόνα (Rixen 2005, Bjerkvig 2016).

Εμφανίζονται δύο μοντέλα αιμορραγίας στην βιβλιογραφία:

1. Τα μοντέλα μη ελεγχόμενης αιμορραγίας απεικονίζουν καλά την κλινική εικόνα του τραυματία στον τόπο του τραυματισμού, αλλά ενυπάρχουν σαφή μειονεκτήματα από την άποψη της τυποποίησης και της επαναληψιμότητας του πειράματος.

2. Τα μοντέλα ελεγχόμενης αιμορραγίας προσφέρουν την πολύ καλύτερη διαχείριση του βαθμού του προκληθέντος shock, την καλύτερη επαναληψιμότητα, εντούτοις δεν είναι κλινικά απεικονιστικά (Lomas-Niera et al 2005). Διακρίνονται σε :

2α. ελεγχόμενου όγκου, με τα οποία μελετάται η νευροενδοκρινολογική απάντηση. Δίδεται η δυνατότητα μελέτης της αιμοδυναμικής απάντησης σε σχέση με συγκεκριμένο όγκο απώλειας αίματος και η αξιολόγηση των αντιρροπιστικών μηχανισμών (Lomas-Niera et al 2005) και

2β. ελεγχόμενης πίεσης με τα οποία μελετάται η φυσιολογία των οργάνων και της μικροκυκλοφορίας σε συγκεκριμένες πιέσεις. Αυτό το πρότυπο έχει χρησιμοποιηθεί για να μελετήσει τα αποτελέσματα του υποτασικού shock (η μέση αρτηριακή πίεση από 70 έως 35 mmHg, διάρκεια από 0,5-5hrs) στην συστηματική φλεγμονώδη απάντηση, και ιδιαίτερα σε ήπαρ, πνεύμονα, και εγκέφαλο καθώς επίσης και τα αποτελέσματα των διάφορων στρατηγικών ανάταξης στη λειτουργία οργάνων και την επιβίωση (Majde 2003). Αυτό χρησιμοποιείται και στο παρόν πόνημα. Σε αυτήν την υποκατηγορία χρειάζεται καταστολή. Κριτήριο επιλογής είναι η αιμοδυναμική ευστάθεια (φεντανύλη έναντι μορφίνης), η προστατευτική δράση (κεταμίνη προστατευτική δράση στο ενδοθήλιο και τον πνεύμονα), (Lomas-Niera et al 2005) ή η προποφόλη μόνη της ή σε συνδυασμό με preconditioning (αντιοξειδωτικό και αναστολέας παρθανάτου) (Halladin et al 2014, Zhong et al 2018).

Στα περισσότερα είδη η πειραματική αιμορραγία φθάνει μέχρι το 50% του ολικού όγκου αίματος και εξαρτάται από το ρυθμό αφαίμαξης και την κλινική κατάσταση του ζώου. (Majde 2003).

Τα μοντέλα που χρησιμοποιούνται μπορεί να είναι: μικρών ζώων (μύες, επίμυες, κόνικλοι) για την διερεύνηση της παθοφυσιολογίας της αιμορραγίας αλλά και εφαρμογές θεραπείας και μεγάλων ζώων (πρόβατα, χοίροι) για προκλινική μελέτη προϊόντων. Γενικά χρονική στιγμή όπου αξιολογούνται οι εκβάσεις είναι μεταξύ 2-120 hrs, αν και στην κλινική πράξη οι περισσότεροι θάνατοι επισυμβαίνουν στις πρώτες 24 hrs μετά την βλάβη (Majde 2003).

Η επιλογή του είδους του πειραματοζώου γίνεται ανάλογα με τον σκοπό του πειράματος, τις μετρήσεις που πρέπει να ληφθούν (τα μεγάλα πειραματόζωα παρέχουν περισσότερο υλικό), την οικονομική και επιστημονική επάρκεια του προσωπικού. (Majde 2003, Lomas-Niera et al 2005, Egan Johnson 2020).

Τα πειράματα περιορίζουν περαιτέρω ιδιαιτερότητες ανάλογα με το είδος του πειραματοζώου. Στην μελέτη του ενδοθηλίου το είδος του μεσολαβητή που θα παραχθεί εξαρτάται από το είδος του πειραματοζώου. (Naidu et al 2003 a).

Τα κυψελιδικά μακροφάγα, τα οποία περιορίζουν την φλεγμονώδη απάντηση στον πνεύμονα, υπάρχουν εν αφθονία σε όλα τα είδη, αλλά υπερτερούν στα τρωκτικά.

Τα αγγειακά ΜΦ βρίσκονται στα πρόβατα, τις αίγες αλλά όχι στα τρωκτικά (Nakamura et al 2005). Επίσης η βαρύτητα της LIRI κυμαίνεται ανάλογα με τα είδη. Στους κόνικλους είναι βαρύτερη από τους κύνες (Matute-Bello et al 2008).

Μεταξύ 1990-2015 εμφανίζονται 71 μελέτες. Από τα 1,959 πειραματόζωα (1,149 αρουραίους, 64 κόνικλους), οι 55 μελέτες ανέφεραν το φύλο. Οι 48 συμπεριελάμβαναν μόνο άρρενα πειραματόζωα και οι 4 είχαν μεικτό πληθυσμό, ενώ η απάντηση στο αιμορραγικό shock επηρεάζεται από το φύλο. Διακύμανση είχε η διάρκεια του shock και ο τρόπος επίτευξης του. Τα πειράματα δεν έχουν σχεδιασθεί για να μιμηθούν επιπλοκές και θνητότητα. Έτσι οι μελέτες θα πρέπει να αξιοποιούνται με προσοχή, ενώ υπογραμμίζεται η ανάγκη για ενιαίο πρωτόκολλο. (Naumann et al 2016).

1.13. ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΒΛΑΒΗΣ I/E

Τα πειραματικά μοντέλα βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης βοήθησαν στην διερεύνηση των μηχανισμών της I/E και τις θεραπείες.

Ο περιορισμός της έκτασης της βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης μπορεί να επηρεαστεί από προστατευτικές παρεμβάσεις όπως το pre-, peri- ή postconditioning ή προστατευτικούς παράγοντες οι οποίοι χορηγούνται ή πριν την ισχαιμία ή στην αρχή της επαναιμάτωσης όπως τα αντιοξειδωτικά αντιφλεγμονώδη κατασταλτικά (μελατονίνη, δεξμεντετομιδίνη) (Halladin 2015, Chen M et al 2020), οι ROS-scavengers (προποφόλη, κεταμίνη, προκαΐνη, λιδοκαΐνη, βιταμίνη C) (Halladin 2015, Zhong et al 2018, Liang et al 2019) ή τα αντιφλεγμονώδη του πηκτικού μηχανισμού (τρανεξαμικό οξύ) (Teng et al 2018), ή τα αντιοξειδωτικά/αντιφλεγμονώδη (S-νιτρογλουταθειόνη/GSNO) (Turan et al 2018), ή τα θεραπευτικά αέρια (H₂S, NO, CO, H₂) με αντιφλεγμονώδη, αντιαποπτωτικό, αντιοξειδωτικό ρόλο (Thais Fantozzi et al 2018, Naito et al 2020) (σχήμα 14).

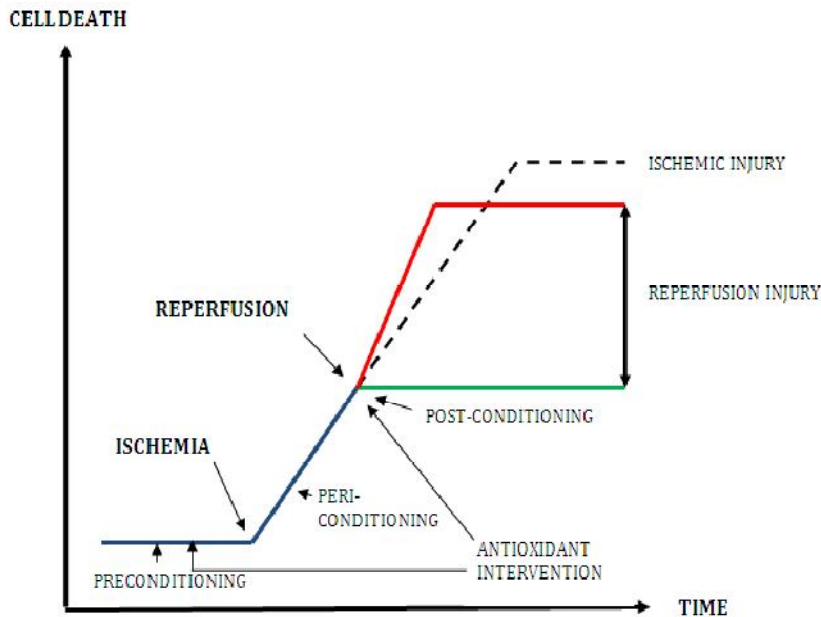
Η ταχεία έκπτωση της βιταμίνης C -εξαιτίας του οξειδωτικού stress της I/E- από το κυτταρόπλασμα συμβαίνει λόγω κατανάλωσης. (Naito et al 2020). Σημειωτέον, η βιταμίνη C έχει πλειοτροπική δράση και έχει μελετηθεί για την βλάβη του ΚΝΣ και του μυοκαρδίου στην ανακοπή που αποτελεί επίσης μοντέλο ολικής ισχαιμίας-επαναιμάτωσης όπως το αιμορραγικό shock. Περιορίζει την γένεση των ROS, επιδιορθώνει και τα άλλα ενδογενή αντιοξειδωτικά συστήματα (γλουταθειόνη, ουρικό, βιταμίνη E) και ρυθμίζει πλειάδα ενζυμικών αντιδράσεων επιπλέον της δράσης της ως άμεσος δραστικός σαρωτής (scavenger). Με την δράση της ευοδώνει την NO-εξαρτώμενη ακεραιότητα του ενδοθηλίου και τον αγγειακό τόνο. Όμως η χορήγηση μπορεί να έχει αμφίσημα αποτελέσματα. Χρειάζεται συγκέντρωση στο πλάσμα 1-10mmol/l ή υψηλότερη και με την παρουσία μεταλλικών ιόντων (Fe³⁺) λειτουργεί ως προοξειδωτικό συμμετέχοντας στην αντίδραση Fenton. Επίσης χορηγούμενη δύναται να καταργήσει την προστατευτική σηματοδότηση των ROS.

(Spoelstra-deMan et al 2018).

Οι αντιοξειδωτικές θεραπείες όπως η χορήγηση ανταγωνιστού του C5, C3ή αναστολή της iNOS, ή οι δότες NO έχουν εφαρμοστεί σε πειραματόζωα, πρώιμως και μάλιστα στην αρχή της επαναιμάτωσης. Είχαν άριστα αποτελέσματα μεν, στην μείωση του MODS και του ALI, όπως π.χ. οι [Harkin et al 2004a,b](#), [Turan et al 2018](#), [Liang et al 2019](#), [Thais Fantozzi et al 2018](#), αλλά όπως και τα προηγούμενα η κλινική εφαρμογή απέχει.

Αντιθέτως η προοδευτική επανοξυγόνωση στην επαναιμάτωση ως αντιοξειδωτικό έχει μελετηθεί σε ασθενείς. Η μέτρηση MDA 1 min μετά την επαναιμάτωση σε καρδιακή παράκαμψη (CPB) κατέδειξε μικρότερο οξειδωτικό stress στους ασθενείς που έλαβαν σχετικώς υποξικό μείγμα (PaO₂ 50-70 mmHg) εν σχέσει με αυτούς που επαναρδέυθησαν με PaO₂>250mmHg, που θεωρείται ο παραδοσιακός τρόπος αερισμού ([Abdel-Rahman et al 2003](#)).

Ειδικώς όσον αφορά τα αναισθητικά φάρμακα **1.** τα κατασταλτικά ασκούν αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση (ROS, ONOO⁻). ([Naito et al 2020](#)). Η κεταμίνη σε ασθενείς καρδιοπνευμονικής παράκαμψης μείωσε την αύξηση της IL-6 και της CRP διεγχειρητικώς και μετεγχειρητικώς, δράση όμως που δεν είχε σε λιγότερο βαρέως πάσχοντες. Πειραματικώς σε σηπτικά μοντέλα είχε αποδειχθεί η αντιφλεγμονώδης δράσης της μέσω αναστολής μεταγραφικών παραγόντων (AP-1, NF-κB) ([Weyker et al 2012](#)). Επίσης πειραματικώς η προποφόλη απεδείχθη προστατευτική για την ALI ([Cruz et al 2017](#)) καθώς και για την πρόληψη του παρθανάτου μέσω αναστολής της υπερπαραγωγής των ROS και της απελευθέρωσης Ca²⁺ ([Zhong et al 2018](#)). Η δεξμεντετομιδίνη μειώνει την πνευμονική βλάβη (μείωση της MDA, αύξηση της SOD, μείωση της MPO, της διήθησης φλεγμονωδών κυττάρων, της διαπερατότητας, του οιδήματος, της κασπάσης-3 και έκφραση της Bax και ευόδωση της Bcl-2) μέσω αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών, αντιαποπτωτικών δράσεων ([Chen M et al 2019](#)), αλλά εκκρεμεί πληρέστερη μελέτη μηχανισμών. Εν μέρει ενέχεται η ευόδωση της έκφρασης του κανναβινοειδούς υποδοχέα CB2 και την έκφραση του παράγοντα Akt ([Chen M et al 2020](#)).



Σχήμα 14 Απεικόνιση χρόνων παρεμβάσεων στην βλάβη I/E

Η βλάβη της επαναιμάτωσης επιπροστίθεται στην αρχική της ισχαιμίας (καταλήγει στην κόκκινη γραμμή). Τα αντιοξειδωτικά χορηγούνται ή πρίν την ισχαιμία ή στην αρχή της επαναιμάτωσης (πράσινη γραμμή). Εάν η ισχαιμία δεν επαναιματωθεί καταλήγει σε κυτταρικό θάνατο (διακεκομμένη μαύρη γραμμή). (Halladin 2015)

2. τα τοπικά αναισθητικά με δοσοεξαρτώμενο τρόπο μειώνουν το H_2O_2 , δρουν προστατευτικά στην βλάβη του ενδοθηλίου κατά την I/E, 3. τα αναισθητικά κατασταλτικά φάρμακα λειτουργούν προστατευτικά στην κυτταρική χρησιμοποίηση της γλυκόζης και του O_2 και καταστέλλουν τις δράσεις των ουδετεροφύλων (Naito et al 2020). Ειδικώς το **σεβοφλουράνιο** προφυλάττει τον ενδοθηλιακό γλυκοκάλυκα και αμβλύνει την προσκόλληση των ουδετεροφύλων (Brettner et al 2017, Chen L et al 2019).

Ομως οι αιμοδυναμικές μεταβολές στην σοβαρή αιμορραγία και το shock και η προκληθείσα -μη ομότιμα και προβλεπόμενα κατανεμημένη-υπόάρδευση επηρεάζουν σε ισχυρό βαθμό την φαρμακοκινητική των ενδοφλέβιων αναισθητικών. Σε μικρότερο σχετικώς βαθμό επηρεάζεται η φαρμακοδυναμική (Egan & Johnson 2020). Συνεπώς και για αυτόν τον λόγο γίνεται επισφαλής η αντιστοίχιση πειραματικών και κλινικών δεδομένων και δεν φαίνεται άμεση η κλινική εφαρμογή των πειραματικών.

Σε κλινικό όμως επίπεδο η οποιαδήποτε χρήση πρέπει να γίνεται από εξαιρετικά έμπειρο προσωπικό. Στην Επείγουσα Ιατρική είτε στην Πολιτική ή στην

Στρατιωτική Ιατρική η φάση της επαναιμάτωσης είναι αυτή στην οποία μπορεί να εφαρμοσθεί μία τεχνική ή παράγοντας, άρα τίθενται ακόμη περισσότεροι περιορισμοί εφαρμογής. Οι κλινικές στρατηγικές για την μείωση της LIRI δεν διαφέρουν από αυτές του ARDS και είναι ανεξάρτητες αιτίας. Παραμένει ο προστατευτικός αερισμός, η μείωση της περιόδου αερισμού ισχαιμικής περιοχής, η αποφυγή περαιτέρω πρόκλησης πνευμονικής βλάβης (VILI), η επιτρεπτή υπερκαπνία και η παρακολούθηση και προσαρμοσμένη ανά ασθενή χορήγηση υγρών και ινοτρόπων (Weyker et al 2012).

ISCHEMIC PRECONDITIONING/ POSTCONDITIONING

Η ευεργετική επίδραση της προγύμνασης (Ischemic Preconditioning) και της μετσχαιμικής προστασίας (Ischemic Postconditioning), δηλαδή της εφαρμογής βραχέων περιόδων ισχαιμίας κατά την διάρκεια της νορμοξικής επαναιμάτωσης έχουν μελετηθεί εκτεταμένως για την I/E του μυοκαρδίου στην μείωση της έκτασης της ιστικής νέκρωσης. (Murphy et al 2008, Sanada et al 2011).

Τα καρδιοπροστατευτικά αποτελέσματα εφαρμόζονται όταν οι ιστοί εκτίθενται σε μικρές περιόδους προγύμνασης στην I/E (conditioning I/R) πριν την ισχαιμία (**ischemic preconditioning**), κατά την διάρκεια της ισχαιμίας (ischemic preconditioning) ή μετσχαιμικώς κατά την έναρξη της επαναιμάτωσης (**ischemic postconditioning/μεταγύμναση**) (Kalogeris et al 2017).

Ισχαιμική προγύμναση απομεμακρυσμένων οργάνων (remote ischemic preconditioning) έχει αποδώσει πειραματικώς κυρίως και κλινικώς κάποια ευεργετικά αποτελέσματα στην βλάβη της I/E. Εφαρμόζεται ισχαιμία βραχέος χρονικού διαστήματος με επαναιμάτωση σε ένα όργανο, ιστό ή αγγειακό δένδρο και τα **απομεμακρυσμένα όργανα εμφανίζουν μικρότερη βλάβη** (remote effect), όπως νεφρός, ήπαρ, μυοκάρδιο και εγκέφαλος, γαστρικός βλεννογόνος (Kalogeris et al 2017, Limani et al 2016, Naito et al 2020). Σε κλινικό επίπεδο και I/E ενός μέλους στην ορθοπεδική χειρουργική προτάθηκε ως αποτελεσματική προστασία ο συνδυασμός προποφόλης (ως αντιοξειδωτικού φαρμάκου) και **preconditioning** (Halladin et al 2014).

Ειδικώς στην βλάβη πνεύμονος (LIRI) το NO και ο περοξυνιτρίτης (ONOO⁻) στο preconditioning έχουν βρεθεί να παρέχουν προστατευτική δράση, αλλά και εδώ οι μελέτες έχουν προοπτική χρόνου. Χρησιμοποιείται το νιπροπρωσσικό (με τις απαιτήσεις στην χορήγησή του) ως δότης NO πριν την LIRI και όντως προλαμβάνει την πρόκληση οιδήματος. Η ωφέλεια αποδόθηκε εν μέρει στην επίδραση στα μιτοχόνδρια, όπου μειώνεται ο σχηματισμός των ROS, αναστέλλεται η επαγόμενη από τα μιτοχόνδρια απόπτωση και σταθεροποιούνται οι διάλυτοι των μιτοχονδρίων. Πιθανόν 1) οι φυσιολογικές συγκεντρώσεις του ONOO⁻ ενεργοποιούν κυτταρικές οδούς προστατευτικές για τον πνεύμονα πριν την βλάβη ή και 2) το ONOO⁻ ενεργοποιεί κυτταρικά προστατευτικά συστήματα έναντι της LIRI (Pak et al 2017).

Ο μηχανισμός των ανωτέρω δύο μεθόδων φαίνεται παρόμοιος. Ενέχονται νευρικοί και ορμονικοί μηχανισμοί (προστανοειδή, IL-10, λευκοτριένια κ.α.) (Naito et al 2020), ενεργοποίηση των προστατευτικών πρωτεϊνικών κινασών όπως η PKCε, την έκφραση γονιδίων που προάγουν την επιβίωση (heme oxygenase-1) και των μιτοχονδριακών αντιοξειδωτικών συστημάτων (MnSOD, ALDH1, ή ALDH2) (Kalogeris et al 2017).

Επιγραμματικώς οι επιτευχθείσες συγκεντρώσεις των NO και ROS είτε συμμετέχουν άμεσα στην I/E, είτε ασκούν προστασία (μικρές συγκεντρώσεις) με ισχαιμική ή φαρμακολογική preconditioning και postconditioning (Kalogeris et al 2017).]

1.14. ΑΝΑΤΑΞΗ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟΥ

SHOCK

1.14.1 ΑΝΑΤΑΞΗ ΜΕ ΥΓΡΑ

1.14.1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ανέκδοτα στοιχεία από τον Α' παγκόσμιο πόλεμο υποστήριξαν την ματαιότητα της οιασδήποτε μετάγγισης πριν από τον έλεγχο της αιμορραγίας των θυμάτων. Ο Δρ Walter P. Cannon, χειρουργός, και ένας από τους πρώτους που δοκίμασαν την ενδοφλέβια ανάταξη των τραυματιών στρατιωτών, διατύπωσε ήδη από το 1920 ότι η αύξηση της αρτηριακής πίεσης προ χειρουργικού ελέγχου της αιμορραγίας θα είναι καταστροφική, οδηγώντας σε μεγαλύτερη αιμορραγία και θάνατο καθώς και ότι η μετάγγιση ολικού αίματος λειτουργεί ευεργετικά. (Alam et al 2005). Ο Emerson από το 1945 ήδη συνέστησε την ανάταξη ολικού αίματος και πλάσματος, με προεγχειρητική αποκατάσταση της συστολικής πίεσεως (ΣΑΠ) έως το 100mmHg ως ωφέλιμη στην ιστική άρδευση και την DO₂ (Bjerkvig et al 2016)

Στον Α'ΠΠ αναγνωρίστηκε η χρησιμότητα και εφαρμόστηκαν οι πρώτες τράπεζες αίματος, το ξηρό πλάσμα στον Β'ΠΠ, η σχέση αιμορραγικού shock, διαταραχών πηκτικότητας και θνητότητας στο πόλεμο του Βιετνάμ και τέλος η αναζωογόνηση (damage control resuscitation/DCR) στους πολέμους του Αφγανιστάν και του Ιράκ. (Chang & Holcomb 2017)

Παρά την παρόμοια με του W.P.Cannon ανέκδοτη εμπειρία κατά την διάρκεια των πολέμων Β'ΠΠ, Κορέας και Βιετνάμ, η επιθετική ανάταξη -κυρίως με κρυσταλλοειδή- επεκράτησε ως η πλέον κατάλληλη για το αστικό τραύμα, παρά τις προφανείς διαφορές συνθηκών. Στο Βιετνάμ καθιερώθηκε η χρήση ισοτόνων κρυσταλλοειδών (NS 0.9% και LR) ως υλικών πρώτης επιλογής, αποτελεσματικών και φθηνών για την αποκατάσταση ενδαγγειακού όγκου και επιβίωσης (Alam et al 2005). Ενσωματώθηκε στις οδηγίες του προγράμματος ATLS από την δεκαετία του '70 (Dutton 2001) παρά

τις βιβλιογραφικές αναφορές για τις επιπλοκές της επιθετικής αναζωογόνησης. Σε αυτές αναφέρονται η λύση σχηματιθέντος θρόμβου, οι διαταραχές πηκτικότητας εξ αιριώσεως αρχικώς, και μετά από κατανάλωση παραγόντων, οι ηλεκτρολυτικές διαταραχές, τα σύνδρομα διαμερίσματος (κοιλίας, άκρων) και η υποθερμία, όπως και η επιδείνωση της βλάβης I/E (δυσλειτουργία της μικροαγγειακής κυκλοφορίας και του ενδοθηλίου και πολυοργανική ανεπάρκεια), (Ramesh et al 2019, Cannon 2018). Ήδη από 20ετίας έχει καταδειχθεί η αποτυχία της υπεραναπλήρωσης με υγρά, η σύνδεση της με δυσμενείς εκβάσεις (θνητότητα από διαταραχές πηκτικότητας, ARDS, MODS/MOF) (Chang & Holcomb 2017).

Παρόν πρόβλημα παραμένει η επιδείνωση της συστηματικής βλάβης επαναιμάτωσης με τις κάθε επαναχορηγήσεις κρυσταλλοειδών στην προσπάθεια βελτίωσης της καρδιακής παροχής και της DO₂ (Ramesh et al 2019, Bjerkvig et al 2016).

1.14.1.2. ΣΤΟΧΟΙ ΚΑΙ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΑΝΑΖΩΟΓΟΝΗΣΗΣ

Ο στόχος είναι η θεραπεία της ιστικής και συστηματικής υποάρδευσης στην μικροκυκλοφορία με την βελτίωση των ενεργειακών αναγκών των επαναρδευόμενων κυττάρων (Van Way et al 2003, Cannon 2018, Naito et al 2020), **η αποφυγή συσσώρευσης του χρέους O₂, και η αναπλήρωσή του**. Συστήνεται η συνεκτίμηση κλινικών και μακροσκοπικών μεταβολικών παραμέτρων (γαλακτικό οξύ και έλλειμμα βάσεως). Επειδή σε πειραματικές και κλινικές μελέτες έχει αποδειχθεί η σχέση των τελευταίων με την απώτερη έκβαση, όπως και της διάρκειας και βαρύτητας του shock, γι αυτό και η κλινική κατεύθυνση στις οδηγίες πρέπει να είναι προς την μείωση του <<χρέους O₂>> από την προνοσοκομεική ήδη φροντίδα υγείας (Bjerkvig et al 2016).

Το ενδοθήλιο είναι στόχος θεραπείας και γιά τα υλικά της αναζωογόνησης του αιμορραγικού shock και του σηπτικού shock. Έχει πρωτεύοντα ρόλο η δομική και λειτουργική ακεραιότητα του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα (ΕΓΚ) (Siegemund et al 2019).

Συμφώνως με την αναθεωρημένη αρχή του Starling η ακεραιότητα του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα απαιτείται για την αποτροπή της εξοίδησης των χορηγουμένων υγρών στους ιστούς και μάλιστα ανεξάρτητα από την τριχοειδική πίεση. Η χαμηλή ωσμωτική πίεση μεταξύ γλυκοκάλυκα και λοιπού ΕΚ καθορίζει την ανταλλαγή υγρών. Αντιστρόφως υψηλή κολλοειδωσμοτική πίεση με τα υγρά αναζωογόνησης (π.χ.υπέρτονα) δεν θα ευοδώσει την επαναρρόφηση από τον διάμεσο χώρο. Υψηλή φλεβική πίεση από υπεραναζωογόνηση θα παραβλάψει και την λειτουργία του θωρακικού πόρου, και θα αυξήσει την τριχοειδική πίεση (Siegemund et al 2019). Επίσης η προκληθείσα υπερογκαιμία από τα υγρά αυξάνει τα επίπεδα του νατριουρητικού πεπτιδίου, ενισχύει την κατάτμηση του ΕΓΚ και τελικώς προκαλεί αλλοιώσεις στην μικροκυκλοφορία. Συνεπώς το παράθυρο και στην αιμορραγική και στην σηπτική καταπληξία μεταξύ υπεραναπλήρωσης και βέλτιστης αναπλήρωσης είναι πολύ στενό και με αυτό τον γνώμονα πρέπει να γίνεται η αντιμετώπιση. (Siegemund et al 2019).

Οι κλινικές παράμετροι της ανάταξης του αιμορραγικού shock είναι ποικίλες και επιβάλλεται προσαρμογή ανάλογα με την περίπτωση (Revel et al 2003, Ramesh et al 2019). Η ανάταξη με υγρά θεωρείται επιτυχής όταν αυξάνεται ο όγκος παλμού(SV) και μόνο. Αναταγμένοι θεωρούνται ασθενείς στους οποίους χορήγηση 500 mL κρυσταλλοειδών αποδίδει αύξηση κατά 10% του (SV). Αξιόπιστοι κλινικοί δείκτες θεωρούνται η διακύμανση του όγκου παλμού, των σφύξεων και η δοκιμασία της ανόδου των κάτω άκρων (Ramesh et al 2019, Siegемund et al 2019).

Ο χρόνος μετά την αναζωογόνηση με υγρά είναι κρίσιμος για την επιβίωση. Κριτήριο αποτελεί η διόρθωση της πηκτικότητας, η βελτίωση της μικροκυκλοφορίας και η σταθεροποίηση των μακροσκοπικών αιμοδυναμικών παραμέτρων (ΣΑΠ>100mmHg, ΜΑΠ>65mmHg συνήθως) και οι ασθενείς παύουν να είναι θετικοί στην δοκιμασία με υγρά. Η χορήγηση αγγειοσυσπαστικών και η συνέχιση τους γίνεται αναλόγως της κλινικής εικόνας και του ιστορικού προς αποφυγή της υπερφόρτωσης και του οιδήματος. Υπο- ή υπερ αναζωογόνηση αντενδείκνυται, καθώς αποδεικνύεται καταστροφική για την επιδείνωση της θανάσιμης τριάδας δηλαδή της αιμορραγίας-διαταραχών πηκτικότητας-οξέωσης-υποθερμίας (Siegемund et al 2019). Ως αρχή εφαρμόζεται η ROSE (Resuscitation, Organ support, Stabilization, Evacuation). Έχει

επικρατήσει, ειδικά για ασθενείς τραύματος η στάγδην χορήγηση έως 2 mL/kg/h και η προτίμηση σε 0.9% N/S (Ramesh et al 2019).

1.14.1.3. ΜΕΣΑ ΑΝΑΖΩΟΓΟΝΗΣΗΣ

Σε αυτά τα πλαίσια έχει προχωρήσει η έρευνα για τον μηχανισμούς βλάβης από την αναζωογόνηση, και η βέλτιστη επιλογή όγκου, χρόνου και τύπου του υλικού της αναζωογόνησης.

Όσον αφορά το ιδανικό υλικό -φάρμακο ή διάλυμα- δεν έχει βρεθεί (Montomoli et al 2019). Υπάρχει ομοφωνία για τα χαρακτηριστικά του. Κριτήριο είναι η αποκατάσταση της μικροκυκλοφορίας με την άρση των τυρβωδών δυνάμεων στο τοίχωμα (shear stress), την άμβλυνση της βλάβης του γλυκοκάλυκα, όπως και την επιδιόρθωση της ενδοθηλιοπάθειας από το αιμορραγικό shock (Chang & Holcomb 2017), που περιλαμβάνει την ικανότητα μείωσης της φλεγμονής και των αλληλεπιδράσεων λευκοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων, δεδομένου ότι αυτά έχουν αποδειχθεί να συμβάλλουν σε θετική έκβαση (Naumann et al 2016).

Έχουν μελετηθεί εκτενώς η αθρόα χορήγηση κρυσταλλοειδών, η ανάταξη μικρών όγκων με κολλοειδή και τεχνητά διαλύματα, η μετάγγιση και ο συνδυασμός παραγώγων αίματος, ενώ φαίνεται να υπάρχει ομοφωνία στην ωφέλεια εκ της υποτασικής και καθυστερημένης ανάταξης.

Σε προνοσοκομειακό επίπεδο ευρέως χρησιμοποιείται η προσπάθεια αιμόστασης (αιμοστατικές γάζες) και η αποφυγή λύσης σχηματισθέντων θρόμβων, η τοποθέτηση περιφερικών καθετήρων της μέγιστης δυνατής διαμέτρου, και η συσφικτική περίδεση (tourniquet) (Cannon 2018). Η περιορισμένη (υποτασική ή καθυστερημένη) αναζωογόνηση φαίνεται να προλαμβάνει τις διαταραχές πήκτικότητας από αραίωση και την λύση θρόμβων. Τέλος, δεν αναφέρεται να υπερέχει η αλβουμίνη έναντι των κρυσταλλοειδών, ούτε ο υπέρτονος χλωρονατριούχος ορός ή η υπέρτονος δεξτράνη από τον κλασσικό φυσιολογικό ορό (Wang et al 2019, Cannon 2018). Δεν συνιστάται πλέον η χρήση υπερωσμωτικών διαλυμάτων (Chang & Holcomb 2017, Siegemund et al 2019)

Πειραματικά (Revel et al 2003) και κλινικά δεδομένα κατέδειξαν την καλύτερη επιβίωση που παρέχει η **καθυστερημένη ανάταξη** ειδικώς στο αστικό τραύμα (Demetriades et al 1996, Hambly & Dutton 1996). Τα κλινικά δεδομένα προέρχονται κυρίως από την προνοσοκομειακή Επείγουσα Ιατρική (Revel et al 2003). Σε πειραματικό μοντέλο αρουραίων ανευρεύθη απεδείχθη ότι οι ροές στην μικροκυκλοφορία βελτιώνονται. Εκκρεμεί ακόμη η πλήρης διασαφήνιση του μοριακού μηχανισμού στην μικροκυκλοφορία (El Rashid et al 2005).

Η υποτασική ανάταξη ή ελεγχόμενη υποτασική ανάταξη, όπου ο στόχος είναι η επίτευξη ΜΑΠ χαμηλότερης από ότι στην νορμοτασική ανάταξη, εμπεριέχει τον περιορισμό της γνώσεως του πλήρους ιστορικού του ασθενούς. Χαρακτηρίζεται από μειωμένη ιστική βλάβη, μειωμένο αποπτωτικό θάνατο, μειωμένη ανάγκη μετάγγισης ή χορήγησης όγκου κρυσταλλοειδών, καλύτερη ιστική άρδευση, και κλινικώς από λιγότερες διαταραχές πηκτικότητας και σηπτικές επιπλοκές και τέλος καλύτερη επιβίωση (Dutton 2001 & 2002a,b, Astapenko et al 2019, Ramesh et al 2019).

Ο στόχος της υποτασικής ανάταξης με ΣΑΠ 100mmHg συστήνεται στους ανθρώπους στο πολεμικό τραύμα (άρα νέες ηλικίες χωρίς συνοδό νοσηρότητα), καθώς κάτωθεν αυτού παρατηρούνται μεταβολικά ελλείμματα (έλλειμμα βάσεως και χαμηλή DO_2), και θνητότητα. Στο τραύμα λόγω του πόνου και της βλάβης η συμπαθητική διέγερση είναι υψηλή, οδηγώντας σε αυξημένες περιφερικές αντιστάσεις (SVR). Η περιφερική άρδευση όμως προϋποθέτει χαμηλές περιφερικές αντιστάσεις (SVR) στην δεδομένη (υποτασική) πίεση. Μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό (αναισθησιολόγους) και εξοπλισμό στον κατεσταλμένο ασθενή δύναται να υπάρξει μείωση των (SVR) με παρακολούθηση και διόρθωση της DO_2 ενώ γίνεται η ανάταξη της κυκλοφορίας (Bjerkvig et al 2016).

Πάντως πειραματικώς έχει αποδειχθεί ότι παρατεταμένη υπόταση (8 hrs) με ΜΑΠ <65 mmHg ή ΣΑΠ περίπου 65 mmHg συνδέεται με περιεγχειρητική πνευμονική βλάβη, και διαταραχές μικροκυκλοφορίας (Astapenko et al 2019) με κυτταρική υποξία και θάνατο (Wang et al 2019, Ramesh et al 2019).

1.14.1.3.1.ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΕΙΔΗ ENANTI ΚΟΛΛΟΕΙΔΩΝ

Η ανάταξη με κρυσταλλοειδή παραμένει οικονομικώς η φθηνότερη και άμεσα διαθέσιμη. Χρειάζεται στατιστικά σημαντικότερο όγκο από το απωλεσθέν αίμα ή από τον συνδυασμό ολικού αίματος και κρυσταλλοειδούς. Τα παλαιότερα τεχνητά κολλοειδή όπως και τα κρυσταλλοειδή αυξάνουν την ενδαγγειακή υδροστατική πίεση χωρίς να θεραπεύουν την ενδοθηλική βλάβη. Υπάρχει ομοφωνία στην προτίμηση στο ολικό αίμα και τα παράγωγά του, που την αναχαιτίζει η αδυναμία παροχής τους λόγω οικονομικής και τεχνικής δυσπραγίας (Chang & Holcomb 2017, Siegemund et al 2019).

Στον υπογκαιμικό ασθενή συνιστάται ως πρώτη επιλογή η ισοζυγισμένη χρήση κρυσταλλοειδών και δεύτερη επιλογή η αλβουμίνη. Στην αθρόα όμως αιμορραγία και καταπληξία η πρώτη επιλογή γίνεται το πρωτόκολλο μαζικής μετάγγισης (massive transfusion protocol/MTP) ήτοι τα συμπυκνωμένα ερυθρά, το φρέσκο πλάσμα, και τα αιμοπετάλια και ως δεύτερο βήμα τα κρυσταλλοειδή διαλύματα. Τα κολλοειδή αποκαθιστούν ενδαγγειακό όγκο και μεταβολικά ελλείμματα γρήγορα, οπότε συστήνονται στον ασταθή ασθενή, για βραχεία βεβαίως χρήση έως τον έλεγχο της αιμορραγίας. Ακολουθεί η διατήρηση και αναπλήρωση με κρυσταλλοειδή (Siegemund et al 2019).

Η χρήση υπερτόνων δεν θεωρείται πλέον ότι έχει ωφέλη εν σχέσει με τα κρυσταλλοειδή (Ramesh et al 2019, Siegemund et al 2019, Chang & Holcomb 2017).

Εκ πειραματικών και κλινικών μελετών αποδεικνύεται ότι η ανάταξη με Lactated Ringer's σαφώς επιτείνει την ενδοθηλιακή βλάβη, (Savage et al 2005), αυξάνει την έκλυση ROS (υπεροξειδίου), την συγκόλληση ουδετεροφίλων, την ενεργοποίηση κυτταροκινών (IL-1, IL-6, TNF-α) (Gulati 2016), την απόπτωση στο ήπαρ, τους βλεννογόνους και τις λείες μυϊκές ίνες του λεπτού εντέρου (Rhee et al 1993), την βλάβη πνεύμονος (Deb et al 2000) και εντέρου, αλλά και την δευτερογενή βλάβη του πνεύμονα μετά από ισχαιμία εντέρου (Shukla et al 2004).

Το D-ισομερές του LR διεγείρει την έκφραση 23 γονιδίων που συνδέονται με την λειτουργία των ουδετεροφίλων στο ενδοθήλιο μέσω iNOS, IL-8, και TNF-α (Koustova et al 2002). Αντιθέτως το L ισομερές συστήνεται στο αιμορραγικό shock καθότι

βρέθηκε να προκαλεί μικρότερη συστηματική φλεγμονώδη απάντηση και ανοσιακή έκπτωση του ασθενούς, και μικρότερη θνησιμότητα (Ramesh et al 2019, Chang & Holcomb 2017).

1.14.1.3.2. ΦΥΣΙΚΑ ΚΟΛΛΟΕΙΔΗ ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ

Πειραματικές μελέτες κινητικής απέτυχαν να αποδείξουν ωφέλεια των κολλοειδών με κριτήριο την ογκωτική ικανότητά τους σε καταστάσεις χαμηλής τριχοειδικής πίεσης όπως στην υπογκαιμία και την σήψη, στοιχείο που συνηγορεί επί της αναθεωρήσεως της κλασσικής αρχής του Starling (Montomoli et al 2019).

Η **αλβουμίνη** παράγεται από τις πρωτεΐνες του πλάσματος και όπως και το αίμα και τα παράγωγά του είναι ακριβή επιλογή. Ευθύνεται για το 80% της ογκωτικής ικανότητας του πλάσματος και σημειωτέον είναι ότι χρειάζεται την ογκωτική πίεση για την εκκίνηση της παραγωγής της. Η συγκέντρωση του 20% εξασκεί 75–113 mmHg, επιβεβαιώνοντας την ογκωτική δράση της. Τα τεχνητά κολλοειδή (HES, δεξτράνες, ζελατίνες) παρέχονται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις συγκριτικώς με την αλβουμίνη 20%.

Σε κλινικές μελέτες απεδείχθη ότι με την χρήση της μειώνεται ο συνολικός όγκος των χορηγούμενων υγρών. Ασθενείς που χρειάστηκαν άνω των 10 μονάδων συμπυκνωμένων ερυθρών, έλαβαν υπέρτονα διαλύματα για αναζωογόνηση και έλαβαν ταχεία σωστική χειρουργική (DCS) τελικώς στην ενδονοσοκομειακή τους νοσηλεία πέτυχαν καλύτερους δείκτες όπως μικρότερη χορήγηση υγρών, μικρότερη θνησιμότητα στις 30 ημέρες, μικρότερη εμφάνιση αναπνευστικών επιπλοκών (ARDS), σήψη κ' πολυοργανική ανεπάρκεια (Ramesh et al 2019). Μελέτη του 2004 με 7000 ασθενείς -τον μεγαλύτερο αριθμό στην βιβλιογραφία- δεν είχε βρεί διαφορά στην θνητότητα μεταξύ αυτών που έλαβαν αλβουμίνη και των υπολοίπων. (Siegemund et al 2019). Σε ανθρώπους πυκνότητα ακόμη και μικρότερη του φυσιολογικού είναι ικανή να δεσμεύει το υποχλωριώδες οξύ (HOCl), άρα να μειώσει την πνευμονική βλάβη της αναζωογόνησης (Zhang-Voglis et al 2003), με δοσοεξαρτώμενο τρόπο (Montomoli et al 2019).

Από πειραματικές μελέτες έχει ερευνηθεί η δράση της. Μεταξύ τρωκτικών υπάρχει ετερογένεια δράσεων. Συνεπώς όπως και για την αξιοποίηση μελετών αναφορικά με την μετάγγιση αίματος χρειάζεται προσεκτική εξήγηση και περαιτέρω κλινικές μελέτες (Milford & Reade 2019)

Η αλβουμίνη έχει πλειοτροπική δράση. Στην αναζωογόνηση -και παρότι όπως και ο ΕΓΚ αρνητικώς φορτισμένη- συνδέεται και αυξάνει την σταθερότητα του ΕΓΚ, την κατάτμησή του οπότε και μεταβάλλει την διαπερατότητα μακρομορίων και άλλων διαλυτών (Montomoli et al 2019). Η δράση έως τούδε αποδίδεται στον λιπιδικό μεσολαβητή -την φωσφορική σφινγγοσύνη (sphingosine 1-phosphate /S1P) η οποία αναστέλλει την επαγόμενη από τις μεταλλοπρωτεϊνάσες καταστροφή του ΕΓΚ. Δεν είναι καθόλου γνωστό εάν αγωνιστής της S1P in vivo θα έχει αποτελέσματα. Οπότε τα επίσης ακριβά μελλοντικά σκευάσματα αλβουμίνης εμπλουτισμένης με S1P θα μπορούσαν να έχουν θέση στην αναζωογόνηση (Milford & Reade 2019).

Η αλβουμίνη έχει αντιοξειδωτικό ρόλο, όπως τεκμηριώθηκε σε πειραματικές μελέτες, ο οποίος προέρχεται : **1)** είτε από τη σύνδεση με σίδηρο και έτσι την πρόληψη της υπεροξειδωσης λιπιδίων (Quinlan et al 2004),

2) είτε από την μείωση της παραγωγής ROS (Zhang-Voglis et al 2003), ή ενίσχυσης των αντιοξειδωτικών συστημάτων (γλουταθειόνης) (Montomoli et al 2019),

3) είτε από την αναστολή έκφρασης NF-κΒ (Zhang-Voglis et al 2003, Powers et al 2002-2003a,b),

4) είτε από την δέσμευση με ενώσεις του θείου (Simpkins et al 2004) Με τις δράσεις αυτές θεωρείται <<σταθεροποιητής του ενδοθηλίου>>, συμβάλλοντας στην ρύθμιση της φλεγμονής, στην μείωση της οξειδωτικής βλάβης και της PMN-προσκόλλησης.

Η αλβουμίνη έχει αιμοστατικό ρόλο, με αντιπηκτικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες που φαίνεται να συσχετίζονται μερικώς με την ικανότητα να συνδέουν NO στην θέση Cys-34 αλλά και συνδέονται με απενεργοποίηση του παράγοντα Xa και την αναστολή του PAF (platelet-activating factor). Αντιθέτως τα κρυσταλλοειδή προκαλούν σε άλλοτε άλλο βαθμό πηκτικές διαταραχές, είτε άμεσες είτε αψότερες και με τις αντίστοιχες επιπτώσεις στην έκβαση (Milford&Reade 2019).

1.14.1.3.3. ΤΕΧΝΗΤΑ ΚΟΛΛΟΕΙΔΗ-ΖΕΛΑΤΙΝΕΣ

Είναι σαφώς φθηνότερες, με νεφρική απέκκριση και χαμηλό μοριακό βάρος, ολιγότερη πιθανότητα για διαταραχές πηκτικότητας. Ουσιωδώς δεν έχουν ανώτερο όριο χορήγησης όπως τα παλαιότερα τεχνητά κολλοειδή. Η πολυγελίνη χρησιμοποιείται ευρέως στην Ινδία, δεν παρουσιάζει αναφυλακτοειδείς αντιδράσεις και έτσι καθίσταται ασφαλής για αναζωογόνηση στις μη αστικές περιοχές. Συνεπικουρείται από τον χρόνο ημιζωής των 4–6hrs και την απουσία νεφρικών βλαβών (Ramesh et al 2019).

1.14.1.3.4. ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ

Οι διαφορετικές επιλογές αναζωογόνησης, καθώς και η ανάγκη μετάγγισης με αίμα ή παράγωγα ή συνδυασμό με κρυσταλλοειδή (El Rashid et al 2002, Chang & Holcomb 2017) έχουν μελετηθεί εκτενώς μόν, αλλά καινούργια δεδομένα αναλόγως των κλινικών αναγκών και της οικονομικής κατάστασης ενσκύπτουν, με κατεύθυνση την αιμόσταση και την άμβλυνση της βλάβης I/E (Bjerkvig et al 2016, Milford & Reade 2019, Williams et al 2020).

Από πειραματικά δεδομένα συνάγεται ότι η ανάταξη με **ολικό αίμα** εμποδίζει την αύξηση πρωτεϊνών σχετιζόμενων με την απόπτωση στον πνεύμονα και στον ειλεό (Kiang et al 2005) και την μείωση της φλεγμονώδους απάντησης (IL-6 και IL-10) στο αίμα με μικρότερη πνευμονική βλάβη (Gulati 2016). Αντιπηκτικοί παράγοντες όπως το τρανεξαμικό οξύ (Teng et al 2018) ως αντιφλεγμονώδεις αμβλύνουν την πνευμονική βλάβη εν σχέση με τα κρυσταλλοειδή, μέσω απενεργοποίησης της οδού της PARP-1/NF-κB και μάλιστα μειώνουν την δράση των μορίων προσκόλλησης. Η μερική ανάταξη με ερυθρά (το 25% του αφαιμαχθέντος αίματος) βελτιώνει την μικροκυκλοφορία –όπως μετράται με την μικροσκόπηση ζώντος οργάνου- μέσω της βελτίωσης της κολλοειδωσμοτικής πίεσης και της γλοιότητας (Wettstein et al 2004), υπονοώντας ότι υπάρχει και άλλος μηχανισμός προστασίας.

Όντως σε πειραματικά πρότυπα (αρουραίοι) περιγράφεται ο ρόλος του λιπιδικού μεσολαβητή -της φωσφορικής σφινγγοσύνης (sphingosine 1-phosphate/S1P)- που περιέχεται στα συμπυκνωμένα ερυθρά (PRBCs) και στα αιμοπετάλια και ασκεί τον προστατευτικό ρόλο για τον ΕΓΚ, αρκεί να είναι επαρκής η συγκέντρωση της στο αίμα. Η S1P απομακρύνεται γρήγορα από την κυκλοφορία, οπότε χρειάζεται και η ποσότητα και η ακεραιότητα των ερυθρών και των ΑΜΠ για να βρίσκεται σε επαρκή συγκέντρωση στο αίμα και να ασκεί την δράση της. Αυτό έχει την κλινική του σημασία στην μαζική μετάγγιση κατά την ανάταξη του αιμορραγικού shock. Επίσης σε αρουραίους απεδείχθη ότι η μετάγγιση συντηρηθέντων σε αναερόβιες ή και υπερκαπνικές συνθήκες (PRBCs) υπερτερεί στην αποκατάσταση της μικροκυκλοφορίας εν σχέσει με τα συμβατικώς αποθηκευθέντα ερυθρά. Η διαφορά αποδόθηκε στο οξειδωτικό stress με κατανάλωση του NO που συμβαίνει -λόγω παρασκευής- στα συμβατικά ερυθρά (Williams et al 2020).

Σε κλινικά δεδομένα, η μαζική μετάγγιση (massive transfusion protocol/MTP) δηλαδή -συμπυκνωμένα ερυθρά, φρέσκο πλάσμα, αιμοπετάλια- αποτρέπει παρά διορθώνει την οξεία τραυματική διαταραχή πήκτικότητας (ATC) του αιμορραγικού shock. Το ολικό αίμα μπορεί να είναι φρέσκο (FWB) ή προσφάτως αποθηκευμένο (SWB). Μπορεί να αποθηκευθεί για 21ημέρες στους 1–6°C σε αντιπηκτικό διάλυμα κιτρικής φωσφορικής δεξτρόζης ή για 35ημέρες στους 1–6°C κιτρικής φωσφορικής αδενίνης. Το FWB δεν είναι εγκεκριμένο για το αστικό τραύμα από το FDA λόγω της απουσίας ελέγχου (screening) (Weymouth et al 2019). Συστήνεται η αναλογία 1:1:1 φρέσκου πλάσματος, αιμοπεταλίων, συμπυκνωμένων ερυθρών (Ramesh et al 2019). Επίσης αυστριακή αναδρομική μελέτη συστήνει την χρήση παραγόντων πήξεως αντί πλάσματος και μάλιστα ενωρίς ώστε να αποφευχθούν οι επιπλοκές (ATC, MODS, MOF) (Innerhofer al 2017).

Η χρήση 3 διαφορετικών συσκευασιών κλινικώς συστήνεται, αλλά έχει τεχνικώς τους περιορισμούς της. Επίσης επειδή το ολικό αίμα έχει Ht 40-45%, πλεονεκτεί η χρήση μονάδος ολικού αίματος στην απόδοση κατά 30% υψηλότερης DO₂, συμβάλλοντας στην μείωση του χρέους O₂. Όσο μεγαλώνει η διάρκεια αποθήκευσης του αίματος και των παραγώγων του, τόσο μειώνεται η ευεργετική επίδραση στην DO₂ και στον ΕΓΚ, ενώ αντιθέτως προστίθενται επιπλοκές ρεολογικού

και προσκολλητικού χαρακτήρα, και ανοσολογικές διαταραχές (Bjerkvig et al 2016, Milford & Reade 2019).

Επιπροσθέτως, όσον αφορά την χορήγηση συμπυκνωμένων ερυθρών σε τραυματίες ασθενείς δείκτες ενδοθηλίου (συνδεκάνη-1 και VEGF-1) έχουν προβλέψει την άμεση και απώτερη ανάγκη μετάγγισης. Τα αυξημένα επίπεδα συνδεκάνης-1 ως ενδοθηλιακός δείκτης συσχετίστηκαν με υψηλά επίπεδα αδρεναλίνης την βαθμολογία βαρύτητας (ISS), την άμεση μετάγγιση για την ανάταξη του shock και την απώτερη ενδονοσοκομειακή (Astapenko et al 2019).

Το φρέσκο πλάσμα(FFP) αποκαθιστά τον ενδαγγειακό όγκο, την λειτουργία του ΕΓΚ και περιορίζει το κυτταρικό και διάμεσο οίδημα. Η έκφραση της συνδεκάνης-1 επάγεται με δοσοεξαρτώμενο τρόπο (Astapenko et al 2019). Ο μηχανισμός με τον οποίο αποκαθιστά τον ΕΓΚ, μειώνει την αγγειακή διαπερατότητα και περιορίζει (attenuates) την εμφάνιση της φλεγμονώδους απάντησης δεν έχει διασαφηνισθεί. Ερευνάται η πιθανότητα αναδόμησης των συστατικών του ΕΓΚ. Σε κυτταρικές καλλιέργειες και πειραματόζωα τα FFP αμβλύνουν την κατάτμηση του ΕΓΚ και την αύξηση της διαπερατότητας, όπως και την προσκόλληση, την βλάβη του πνεύμονα και του εντέρου. Επίσης επιδιορθώνουν τις διακυττάρειες συνδέσεις, ώστε συμβάλλουν στην διαπερατότητα.

Σε μη αιμορραγούντες βαρέως πάσχοντες ασθενείς η χορήγηση FFP (12 mL/kg) αρχίζει μέσα σε 1h να αναχαιτίζει την διάσπαση, να επιδιορθώνει τον ΕΓΚ -όπως ανιχνεύεται από τα επίπεδα της συνδεκάνης-1(SDC-1) στο αίμα- και να επαναφέρει την έκφραση του SDC-1-mRNA στα επίπεδα των Κ.Σ.

Σε αναζωογόνηση τραυματικού αιμορραγικού shock η έγκαιρη και πρώιμη χορήγηση FFP μείωσε την άμεση θνητότητα και με τρόπο ανεξάρτητο από την βελτίωση του πηκτικού μηχανισμού (Milford & Reade 2019).

Εν σχέσει με τα κρυσταλλοειδή η χορήγηση **(FFP)** συσχετίστηκε με λιγότερη θνητότητα, παρατήρηση που αποδόθηκε στην προστατευτική δράση του στο ΕΓΚ (Milford & Reade 2019).

Όσον αφορά την οξεία πνευμονική βλάβη από μετάγγιση (transfusion-associated acute lung injury) και τις αλλεργικές αντιδράσεις, δεν αντιστοιχούν στα ποσοστά του παρελθόντος. Αντιθέτως χρήση σε αιμορραγούντες ασθενείς προγραμματισμένης μείζονος αγγειοχειρουργικής του OctaplasLG (επεξεργασμένου

υλικού πλάσματος που περιέχει παράγοντες πήξεως και είναι ελεύθερο DAMPs, κυτταροκινών, κυτταρικών στοιχείων, και μικροσωματιδίων) απέδειξε ότι λειτουργεί προστατευτικά στον ΕΓΚ. Ανιχνεύθηκαν μικρότερα επίπεδα SDC-1 και VE-cadherin (δείκτης ακεραιότητας των διακυττάρων συνδέσεων) συγκριτικά με τα κλασσικά FFP (Milford&Reade 2019).

Οι ερευνητές συμφωνούν σε ό,τι αφορά την μετάγγιση χρειάζονται κλινικές μελέτες που αφορούν τους μηχανισμούς, την θνησιμότητα και τις επιπλοκές (Chang& Holcomb 2017, Naumman et al 2016, Astapenko et al 2019, Milford&Reade 2019).

Όσον αφορά τα **αιμοπετάλια (ΑΜΠ)** που έχουν κύριο ρόλο στην φλεγμονή και την θρόμβωση, υπάρχουν στοιχεία ότι δρουν ευεργετικά στον ΕΓΚ. Η ακεραιότητα του ΕΓΚ χρειάζεται για την πρόληψη της προσκόλλησης ΑΜΠ στο ενδοθήλιο (Astapenko et al 2019). Η ευεργετική δράση αποδίδεται στην λειτουργία της αιμόστασης, στην συμβολή στην επιδιόρθωση του ΕΓΚ (Astapenko et al 2019), και διατήρηση χαμηλής αγγειακής διαπερατότητας, δεδομένου ότι απελευθερώνουν κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες που διαφυλάττουν την ακεραιότητα των ενδοκυττάρων συνδέσεων. Χορήγηση ΑΜΠ νωρίς στην αναζωογόνηση απέδωσε καλύτερη επιβίωση ασθενών στην πρώτη και στην 30^η ημέρα. Όπως και στα προηγούμενα χρειάζονται εκτενείς μελέτες (Milford&Reade 2019).

Το υλικό πρέπει να περιέχεται αιμοσφαιρίνη. Οι βασισμένοι στην αιμοσφαιρίνη **μεταφορείς οξυγόνου (hemoglobin-based oxygen carriers HBOCs)** αποτελούν μια καλή προσπάθεια δημιουργίας ενός υγρού με τα πλεονεκτήματα του αίματος χωρίς τα μειονεκτήματα. Οι νεότερες μελέτες απέδειξαν την άμβλυνση της αγγειοσύσπασης, των οξειδωτικών αντιδράσεων και των αλληλεπιδράσεων λευκοκυττάρων κ ενδοθηλιακών κυττάρων. Κάποιες μελέτες αποδίδουν στο ιξώδες και την ωσμωτικότητα πρωτίστως την βελτίωση της μικροκυκλοφορίας, παρά την ικανότητα μεταφοράς O₂ όπως θεωρείται επί μακρόν. Πάντως οι συγγραφείς ομοφωνούν ότι χρειάζονται περαιτέρω μελέτες (Naumann et al 2016).

1.14.2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΥΠΟΞΑΙΜΙΚΗΣ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ

Στην βιβλιογραφία εμφανίζονται 25 μελέτες της επαναιμάτωσης ιστών με χαμηλή περιεκτικότητα σε O₂ του επαναχορηγούμενου αίματος. Κατά την διάρκεια της επαναιμάτωσης/ανάταξης του αιμορραγικού shock εφαρμόζεται μέσω του αερισμού προοδευτική αύξηση του FiO₂ έως νορμοξικού μείγματος (υποξαιμική επαναιμάτωση). Η ευεργετική δράση της υποξαιμικής επαναιμάτωσης βασίζεται στην πρόληψη της παραγωγής ROS, ακόμη και της εξαρτώμενης από τα ROS εκ νέου παραγωγής τους, που επιτυγχάνεται από την μειωμένη χορήγηση O₂ και την βαθμιαία αποκατάσταση των ενεργειακών αναγκών, ενώ η κυκλοφορία διατηρείται, απομακρύνοντας βλαπτικά στοιχεία του μεταβολισμού.

Σημαντικότερη μελέτη σε ανθρώπους -αλλά μόνο μία ενώ η κλινική ανάγκη είναι τεράστια- χρησιμοποίησε ως αντιοξειδωτικό την προοδευτική επανοξυγόνωση στην επαναιμάτωση ανευρύσματος. Η μέτρηση MDA έδειξε ότι 1 min μετά την επαναιμάτωση σε καρδιακή παράκαμψη (CPB) οι ασθενείς που επαναρδέυθησαν με PaO₂>250mmHg είχαν οξειδωτικό stress εν σχέσει με αυτούς που έλαβαν νορμοξικό μείγμα ώστε μετρήθηκε PaO₂ 50-70 mmHg) (Abdel-Rahman et al 2003).

Οι μελέτες είναι πειραματικές. Εχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως:

- κόνικλοι (Fercakova et al 1994, Daxnerova et al 1995, Marsala et al 1989, Douzinas et al 2007, 2008, 2009a, 2009b, 2011, 2012),
- χοίροι (Douzinas et al 2004, 2003, 2001a, 2001b, Y6 Abdel-Rahman et al 2009) και
- επίμυες (Douzinas et al 2006, Luo et al 2015, Luo et al 2016).

Έχει αποδειχθεί η μείωση :

- του οξειδωτικού stress (Abdel-Rahman et al 2009, Luo et al 2015 & 2016, Douzinas et al 2003, 2001a, 2008, 2006, 2007, 2009b, 2011, 2012),
- της συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης (Luo et al 2015&2016, Douzinas et

al 2004, 2006, 2007, 2008, 2011,2012)

η μείωση της μυοκαρδιακής βλάβης (Douzinas et al 2003, Abdel-Rahman et al 2009)

της πνευμονικής βλάβης (Douzinas et al 2004, 2009b, 2011),

της εγκεφαλικής βλάβης (Douzinas et al 2001a, 2001b),

της βλάβης του νοτιαίου μυελού (Fercakova et al 1994, Daxnerova et al 1995, Marsala et al 1989) και αυτής

του λεπτού εντέρου (Douzinas et al 2004) και του ήπατος (Douzinas et al 2011, 2012), όπως και

η επίτευξη αιμοδυναμικής σταθερότητας (Douzinas et al 2003, Abdel-Rahman et al 2009, Douzinas et al 2006, 2008, 2009b), και

της μείωσης της αιμορραγίας του γαστρικού βλενογόνου (Perry et al 1988) στα υποξαιμικώς αναταχθέντα πειραματόζωα.

Ειδικώς η ανάταξη του αιμορραγικού shock έχει μελετηθεί σε μοντέλο επαναιμάτωσης με FiO_2 0,08-0,1 και με σταδιακή αύξηση έως του FiO_2 0,21 σε αρουραίους (Douzinas et al 2006), σε χοίρους (Douzinas et al 2001a,b 2003, 2004) και σε κόνικλους (Douzinas et al 2007, 2008, 2009a, 2009b, 2011, 2012).

Αποδείχθηκε υπεροχή της υποξαιμικής ανάταξης του shock

στον εγκέφαλο (Douzinas et al 2001a,b)

στον πνεύμονα (Douzinas et al 2009b, 2011, 2012),

στο ήπαρ (Douzinas et al 2012),

στην συστηματική φλεγμονώδη απάντηση (Douzinas et al 2006, 2007, 2008 2011, 2012),

στο μικρότερο οξειδωτικό stress (Douzinas et al 2003, 2006, 2009b, 2011, 2012) και

στην αποκατάσταση αιμοδυναμικής σταθερότητας (Douzinas et al 2006, Douzinas et al 2009a) των πειραματοζώων.

Σε μοντέλο προοδευτικής οξυγόνωσης (gradually increased oxygen administration /GIOA) κατά την επαναιμάτωση σε επίμυες τα υποξαιμικά πειραματόζωα παρουσίασαν μικρότερη ηπατική βλάβη και επιβίωση εν σχέσει με τα υπεροξαιμικά (Luo et al 2015, Luo et al 2016)

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η δυσλειτουργία στην μικροκυκλοφορία που ακολουθεί το αιμορραγικό shock και την αναζωογόνηση του καταλήγει σε δυσλειτουργία πολλών οργάνων, σήψη και θάνατο (Jarrar 1999). Η βλάβη του ενδοθηλίου είναι πρώιμη και έχει αποδειχθεί σε τραυματίες, ενώ τα δεδομένα για τους μηχανισμούς είναι κυρίως πειραματικά (van Leeuwen et al 2020, Hutchings 2018). Οι εμπλεκόμενοι μηχανισμοί είναι φλεγμονής, αποδόμησης του γλυκοκάλυκα, μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και καταστροφής των διακυττάρων ενδοθηλιακών συνδέσεων (Abassi et al 2020, Astapenko et al 2019, 2020).

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα του πνεύμονος είναι από τα πρώτα κύτταρα που προσβάλλονται, ενώ η δυσλειτουργία τους αυτή καθ' εαυτή, συμβάλλει στην παθογένεση του ARDS και τελικώς στην πολυοργανική ανεπάρκεια και τον θάνατο. (Salatti Ferrari & Feijó Andrade 2015). Έτσι ο περιορισμός της βλάβης του πνεύμονος στην περιεγχειρητική περίοδο -όπως με το υλικό αναζωογόνησης- αποτελεί πεδίο ισχυρού ενδιαφέροντος (Brettner et al 2017).

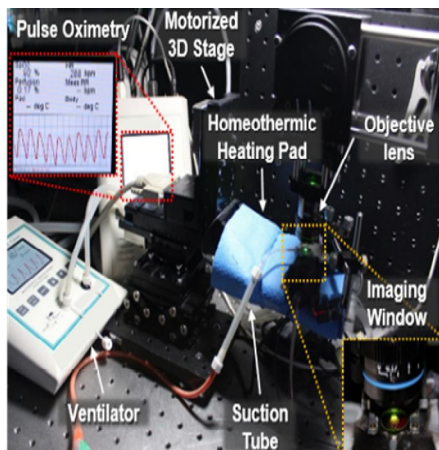
Η θεραπεία της ιστικής και συστηματικής υποάρδευσης είναι πρώτιστος κλινικός στόχος στο αιμορραγικό shock (Gulati 2016, Cannon 2018). Η αναζωογόνηση στοχεύει στην αποκατάσταση του ενδαγγειακού όγκου και της ικανότητας μεταφοράς οξυγόνου, ώστε το "χρέος οξυγόνου" να μειωθεί και εν ευθέτω να αναπληρωθεί (Bjerkvig et al 2016).

Η ευεργετική δράση της υποξαιμικής επαναιμάτωσης βασίζεται στην πρόληψη της παραγωγής ROS εκ της μειωμένης χορήγησης O₂ και στην βαθμιαία αποκατάσταση των ενεργειακών αναγκών, ενώ η κυκλοφορία διατηρείται.

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκε εάν η ανάταξη του αιμορραγικού shock προκαλεί δυσλειτουργία του πνευμονικού ενδοθηλίου και εάν η υποξαιμική επαναιμάτωση εν σχέσει με την νορμοξαιμική δύναται να προκαλέσει μικρότερη βλάβη.

ΕΙΔΙΚΟ

ΜΕΡΟΣ



2.1.ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Για την εκπόνηση της μελέτης μας εφαρμόσθηκε μοντέλλο σταθερής πίεσης που θεωρείται αυξημένης επαναληψιμότητας και χρησιμοποιείται στην βιβλιογραφία για την μελέτη του υποτασικού shock στην φλεγμονώδη απάντηση σε ήπαρ, πνεύμονα, εγκέφαλο καθώς και για την μελέτη των αποτελεσμάτων των μεθόδων αναζωογόνησης και της έκβασης αυτών των πειραμάτων (Lomas-Niera et al 2005, Majde 2003). Έγινε αφαίμαξη-αιμορραγικό shock (Asehnoune et al 2006) και ανάταξη αυτού νορμοξαιμικός ή υποξαιμικός. Η μελέτη ήταν τυχαιοποιημένη, με βάση προσχεδιασμένο μοντέλλο τυχαιοποίησης.

Πειραματόζωα : Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Διεύθυνση Αγροτικής και Κτηνιατρικής Ανάπτυξης. Χρησιμοποιήθηκαν 16 αρσενικοί κόνικλοι λευκοί Νέας Ζηλανδίας, βάρους 3.0-3.5 kg (3.23+/-0.09kg). Τα πειράματα έγιναν στο ειδικά εξοπλισμένο πειραματικό χειρουργείο του ΠΓΝ «Ο Ευαγγελισμός». Το πείραμα και η οργάνωση του ανταποκρίνεται στα διεθνή πρότυπα χρήσης πειραματόζωων για ερευνητικούς σκοπούς και στην σχετική νομολογία και κανονισμούς της Ευρωπαϊκής Ενώσεως

Οι κόνικλοι ελάμβαναν προνάρκωση με κεταμίνη 20 mg/kg, ξυλαζίνη 5 mg/kg ενδομυϊκά, επαναλαμβανόμενα ανά 90 min. Το συγκεκριμένο πρωτόκολλο επελέγη λόγω του ότι επιτρέπει ελάχιστες αιμοδυναμικές επιπτώσεις (Douzinas et al 2008).

Τα πειραματόζωα (κριτήρια εισαγωγής στο πείραμα στον πίνακα 3) τραχειστομούνται και στην συνέχεια συνεδέονται σε αναπνευστήρα Siemens Servo 900 C (Siemens, Erlangen, Germany) και εγένετο έναρξη μηχανικής αναπνοής με Vt 6 ml/kg, και θετική τελοεκπνευστική πίεση (PEEP) 3mmHg (Hall et al 2006). Η συχνότητα καθώς και το FiO₂, ώστε η PaCO₂ με χειρισμούς διατηρείτο 35-40 mmHg και η PaO₂ 95-105mmHg. Η δεξιά έσω σφαγίτιδα φλέβα, η δεξιά και αριστερή καρωτίδα αρτηρία καθετηριάζοντο, για χορήγηση υγρών (Ringer's Lactate 0.2 ml/kg/min) αφαίμαξη αίματος για τις μετρήσεις και αιματηρή παρακολούθηση αντίστοιχα. Τα κριτήρια εισαγωγής αναφέρονται στον πίνακα 5. Οι συστηματικές

πίεσεις και οι πιέσεις των αεραγωγών κατεγράφοντο συνεχώς από φυσιογράφο (Electronics for Medicine, Boston, MA), με την βοήθεια μετατροπέων πίεσεως, οι οποίοι είχαν σταθεροποιηθεί στο ύψος της αριστεράς κοιλίας. Η κεντρική θερμοκρασία διατηρείτο από 38 °C έως 39°C με την βοήθεια ηλεκτρικής κουβέρτας.

2.1.1. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

Τα πειραματόζωα παρέμεναν εν ηρεμία για 30 min προκειμένου να επιτευχθεί σταθερή κατάσταση. Ακολουθούσε η λήψη αίματος για την αρχική μέτρηση (αρχική τιμή αναφοράς/baseline) της ενδοθηλιακής λειτουργικότητας του πνεύμονα, ως αυτή μετρήθηκε από την δραστικότητα του PCEB-ACE (περιγραφή κατωτέρω).

Η εισαγωγή στο shock ασκείτο με αφαιμάξη ποσότητας αίματος 1.5-2.5 ml/min, επιτυγχάνοντας προοδευτικά ΜΑΠ έως 40 mmHg μέσα σε περίοδο 30 min. Το shock διατηρείτο για 60 min. Το αίμα αφαιρείτο ή επανεγχύετο σε περίπτωση που παρατηρείτο απόκλιση της ΜΑΠ από τα 40 mmHg (Douzinas et al 2008).

Ακολουθώς τα πειραματόζωα ταξινομούνται με βάση προσχεδιασμένο μοντέλλο τυχαιοποίησης ταξινόμησης σε δύο ομάδες ανάλογα με τον τύπο της επαναιμάτωσης:

-νορμοξαιμική ομάδα (Normox-RES, n=9) όπου η επαναιμάτωση γινόταν με FiO_2 0.21-0.24 ούτως ώστε να επιτυγχάνεται PO_2 95-105mmHg

-υποξαιμική ομάδα (Hypox-RES, n=7) όπου η επαναιμάτωση γινόταν με FiO_2 0.08-0.11 ούτως ώστε να επιτυγχάνεται PO_2 35-40mmHg.

Η αναζωογόνηση/ανάταξη του shock ξεκινούσε με την επανέγχυση του συλλεχθέντος αίματος μέσα σε χρονική περίοδο 30 min σε συνδυασμό με Ringer's Lactate 0.4 mL/kg/min, που συνεχιζόταν για 60 min. Από τα 60 έως τα 120 min της αναζωογόνησης του shock δεν ε χορηγούνται περαιτέρω υγρά για να αποφευχθεί η υπερενυδάτωση και το οίδημα πνεύμονος.

Στόχος ήταν να επανέλθει η ΜΑΠ στο 90% της αρχικής (Savoye et al 2005)

βαθμηδόν (Bruttig et al 2005, Stern 2001, Alam et al 2004).

Κατά τα πρώτα 10 min της επαναιμάτωσης/ αναζωογόνησης και για κάθε 10 min, το FiO₂ αυξάνετο προοδευτικά στα υποξαιμικά πειραματόζωα κατά 0.02, έως να φθάσει τα επίπεδα της νορμοξαιμίας μέσα στην επόμενη μία ώρα. Στις 2 ώρες της επαναιμάτωσης/αναζωογόνησης πραγματοποιείται η δεύτερη μέτρηση (post-resuscitation) της ενδοθηλιακής λειτουργικότητας του πνεύμονα με την μέτρηση της δραστηκότητας του PCEB-ACE που περιγράφεται παρακάτω.

πίνακας 3	Κριτήρια εισαγωγής στο πείραμα
Βάρος	3,0-3,5kg
Φύλο	Αρρενα
Τύπος	Νέας Ζηλανδίας
ΜΑΠ	87-92mmHg
PEEP	3 mmHg
Vt	6 ml/kg
I:E	1:2
PaO ₂	95-105mmHg (με χειρισμό FiO ₂)
PCO ₂	34-37mmHg (με χειρισμό αερισμού)
pH	7,37-7,45
ΑΠΟΚΛΕΙΟΝΤΑΙ	ΙΝΟΤΡΟΠΙΑ

Με την ολοκλήρωση του πειράματος, δηλαδή μετά την μέτρηση της δραστηκότητας του ενζύμου, τα πειραματόζωα θυσιάζοντο με πεντοβαρβιτάλη. Η θωρακική κοιλότητα ανοιγόταν. Οι δύο πνεύμονες και η καρδιά παρασκευάζοντο ανατομικά en bloc και εντός ελαχίστου χρόνου, αφού εγίνετο αφαίμαξη από την δεξιά κοιλία. Με τον τρόπο αυτό απομακρύνετο το επιπλέον αίμα από την πνευμονικό ιστό (Sinclair et al 2002). Ακολουθούσε: 1) Ιστολογική εξέταση και ανοσοϊστοχημικές εξετάσεις από τον αριστερό πνεύμονα ο οποίος μετά την αφαίρεση ενεβαπτίζετο σε φορμαλδεύδη 10%, και 2) Μέτρηση δράσης μυελοπεροξειδάσης (MPO), μαλονδιαλδεύδης (MDA) από τον δεξιό πνεύμονα ο οποίος μετά την αφαίρεση ενεβαπτίζετο σε υγρό άζωτο και αποθηκεύετο στους -80°C, όπως αναλυτικά περιγράφεται κατωτέρω.

2.1.2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΡΟ ΠΝΕΥΜΟΝΟΣ

Η μυελοπεροξειδάση (Myeloperoxidase /MPO) είναι λυσοσσωματικό ένζυμο που αποθηκεύεται στα αζουροφιλικά κοκκία των ουδετεροφίλων και σε κάποιο βαθμό στα μακροφάγα, με χαρακτηριστική χρώση. Καταλύει την αντίδραση του υποχλωριώδους οξέος από H₂O₂.



Επίσης όμως ευθύνεται και για τον σχηματισμό 3-χλωροτυροσίνης και 3-νιτροτυροσίνης. Η πρώτη δράση της είναι η συμμετοχή στην φαγοκυττάρωση. Η ισχαιμία-επαναιμάτωση ενεργοποιεί το ενδοθήλιο, εκφράζει μόρια προσκόλλησης και προάγει την προσκόλληση φαγοκυττάρων, με την οποία απελευθερώνεται η MPO. Η μέτρηση στο αίμα είναι δείκτης αποκοκκίωσης των PMN και διήθησης. Στον πνεύμονα είναι ισχυρός δείκτης βλάβης

Η αυξημένη διαπερατότητα της πνευμονικής κυκλοφορίας (σε ανθρώπους μετά καρδιοπνευμονική παράκαμψη) συσχετίζεται με τις μετεγχειρητικές συγκεντρώσεις της MPO. Η MPO αυξάνεται κατακόρυφα μετά την χορήγηση ηπαρίνης, φαινόμενο που αποδίδεται στην απελευθέρωση από το αγγειακό τοίχωμα (Jairam 2012, Engels & van Oeveren 2015).

Η μέτρηση της μυελοπεροξειδάσης (MPO) εκτελείτο συμφώνως με το προηγούμενος δημοσιευμένο πρωτόκολλο (Bedirli et al 2007, Villiotou & Delikonstantinos 1995) μετά κάποιες τροποποιήσεις. Ο ιστός του αριστερού λοβού του πνεύμονα ομογενοποιείτο σε 1 mL 50mM ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου - potassium phosphate buffer- με pH 6.0 που περιείχε 0.5% βρωμιούχο εξαδεκυλ-τριμεθυλ- αμμώνιου και 5mM EDTA για 30 sec στον πάγο. Ο ομοιογενοποιημένος ιστός επωάζετο στους 60° C για 2h και έπειτα υφίστατο φυγοκέντρηση για 30 min στις 14.000 rpm, στους 4° C.

Το υπερκείμενο (3.75 μL) προσετίθετο σε 296 μL, ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού καλίου 100 mM με pH 6.0, που περιείχε 0.167 mg/mL από ο - διανισιδινο- υδροχλωρίδιο, και 0.0005% υπεροξειδίου υδρογόνου. Εγένετο χρήση αντικειμενοφόρου πλάκας 96 θέσεων (wells) και κάθε δείγμα εμετράτο εις διπλούν. Η απορροφητικότητα των 460 nm ορατού φωτός εμετράτο για 3 min σε τακτά χρονικά διαστήματα (κατ' ελάχιστον 20 seconds) Η δραστηριότητα της MPO ανά γραμμάριο

υγρού πνεύμονα υπολογίζετο ως εξής: MPO activity (U/g lung tissue) = $\Delta OD/min/lung\ weight\ (g)$, όπου ΔOD είναι ίση με την κλίση της αλλαγής στην απορροφητικότητα στα 460 nm σε τακτά χρονικά διαστήματα για 3 min.

2.1.3.ΜΕΤΡΗΣΗ MDA ΠΝΕΥΜΟΝΟΣ

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA)- όπως το αραχιδονικό οξύ- υφίστανται λιπιδιακή υπεροξειδωση (LOOH) λόγω της επίδρασης των ROS, οπότε σχηματίζουν ένα φάσμα από ενεργές μορφές αλδευδών. Αν και θεωρούνται τελικά προϊόντα οι αλδεύδες αντιδρούν με ποικίλα μόρια. Είναι δεύτερος αγγελιοφόρος οξειδωτικού stress και λιπιδιακής υπεροξειδωσης. Η MDA παράλληλα, αποτελεί έναν έμμεσο δείκτη της υπεροξειδωσης των πρωτεϊνών, καθώς μπορεί να δεσμευτεί στις πρωτεΐνες (Jairam 2012, Ayala et al 2014).

Ο προσδιορισμός μαλονδουαλδεύδης (malondialdehyde/MDA) εκτελείτο (Villiotou & Delikonstantinos 1995) στο σύστημα HPLC Shimatzu με τον ανιχνευτή φθορισμού χρησιμοποιώντας την εξάρτηση MDA (Immun- Diagnostik, Bensheim). Εν συντομία, τα δείγματα ιστού ή τα δείγματα πλάσματος, μετά από derivatization για 60 min στους 95°C και την βελτιστοποίηση του pH, εχωρίζοντο με την ισοκρατική/isocratic μέθοδο που χρησιμοποιεί μια αντεστραμμένη στήλη Bischoff φάσης Prontosil Eurobond, 5 μm , 125x4 mm. Τα χρωματογραφήματα καταγράφοντο από τον ανιχνευτή φθορισμού (515 nm excitation/διέγερση και 553 nm emission/εκπομπή). Τα αποτελέσματα εκφράζοντο ως $\mu mol/L$ και για τα δείγματα ιστού η πρωτεϊνική συγκέντρωση υπολογίζετο με την μέθοδο Bradford και τα αποτελέσματα εκφράζοντο ως $\mu mol/mg$ πρωτεΐνης.

2.1.4.ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΠΝΕΥΜΟΝΩΝ

Οι Claridge et al 2000 α είχαν χρησιμοποιήσει την βαθμονόμηση που αναγράφεται στον πίνακα 4.

Πίνακας 4. Βαθμονόμηση ιστολογικής βλάβης πνεύμονα κατά Claridge

Ιστολογική βαθμονόμηση	βαθμός
1. Φλεγμονώδη κύτταρα/πεδίο	
<5	0
6–10	1
11–15	2
16–20	3
>20	4
2. Διάμεσο οίδημα	
Κανένα	0
Ελάχιστο – μέτριο	1
Σοβαρό	2
3. Πνευμονικό οίδημα	
<5% Κυψελίδων	0
5–25% Κυψελίδων	1
>25% των Κυψελίδων	2
4. Κυψελιδική ακεραιότητα	
Κανονική	0
Ανώμαλη	1

Υπάρχουν απλούστερες κατατάξεις, όπου η διήθηση με PMN και η Κυψελιδική ακεραιότητα βαθμολογούνται με σταυρούς (καμμία -, μέτριο +, σοβαρό ++)

(Ishikawa et al 2003, Naidu et al 2003, Murao et al 2003)

Ο αριστερός πνεύμονας, όταν αφαιρείτο από το υπόλοιπο παρασκευάσμα, ενεβαπτίζετο σε διάλυμα φορμαλδεΰδης 10%. Μετά από 4 ημέρες σταθεροποίησης στο διάλυμα φορμαλδεΰδης, τα τυποποιημένα τμήματα ελήφθησαν και υπεβλήθησαν σε επεξεργασία για την εμβάπτιση σε παραφίνη. Οι μονιμοποιημένοι ιστοί στην

συνέχεια τεμαχίζονται σε λεπτές τομές των 4μm, που υποβλήθηκαν σε χρώση με αιματοξυλίνη-ήωσίνη. Πέντε τυχαία επιλεγμένες περιοχές από κάθε πλακάκι αξιολογούνται στην υψηλής ισχύος ενίσχυση 200x και βαθμολογούνται σε κλίμακα 4-σημείων (0 καμμία, 1 ήπια, 2 μέτρια, 3 σοβαρή βλάβη) ως προηγουμένως περιεγράφη (Sinclair et al 2002, Murao et al 2003) για κάθε μια από τις ακόλουθες παραμέτρους: πάχος της βασικής μεμβράνης, συμφόρηση και οίδημα κυψελίδων, διήθηση από τα ερυθροκύτταρα αίματος, φλεγμονή του διάμεσου διαστήματος και φλεγμονή κυψελίδων. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του πνευμονικού ιστού μελετούντο κάτω από οπτικό μικροσκόπιο. Η εκτίμηση των ιστοπαθολογικών ευρημάτων γίνεται με τυφλή μέθοδο, χωρίς να είναι γνωστή η ομάδα στην οποία ανήκει το κάθε δείγμα, εξουδετερώνοντας με αυτό τον τρόπο τον υποκειμενικό παράγοντα.

2.1.5. ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ

Η ανοσοϊστοχημεία εφαρμόζεται επάνω σε τμήματα ιστού των 4 μm εμβαπτισμένα σε παραφίνη. Η ανάκτηση αντιγόνων εκτελείται με την θέρμανση των τμημάτων (slides) σε έναν φούρνο μικροκυμάτων των 800 Watts για 20 min σε 0.1 M διάλυμα κιτρικού άλατος (pH=6.0) για ICAM-1 και VCAM-1. Τα ακόλουθα μονοκλωνικά αντισώματα χρησιμοποιούνται: (a) anti-ICAM-1 (MS-1094, Neomarkers, LabVision Corp. Fremont, Canada) και (b) anti-VCAM-1 (MCA-981, Serotec Ltd, United Kingdom). Τα δύο μόρια ανιχνεύθηκαν με την βοήθεια της βασισμένης στο πολυμερές σώμα τεχνικής των δύο βημάτων (Envision, Dako Corp. Denmark). Διαμινοβενζιδίνη (Diaminobenzidine) χρησιμοποιείται ως χρωμογόνο υπόστρωμα και αιματοξυλίνη Harris ως χρώση. Για τους αρνητικούς ελέγχους, **αποθηκευμένος -για αυτό το σκοπό- φυσιολογικός ορός** αντικαθιστούσε τα αρχικά αντισώματα.

Έκφραση των ICAM-1 και VCAM-1 ενεφάνη στα ενδοθηλιακά κύτταρα (μέσα στα αγγεία), στα φλεγμονώδη κύτταρα (συνήθως κατά ομάδες που μοιάζουν με πτωχά διαμορφωμένες κονδυλώδεις δομές) και στα επιθηλιακά κύτταρα (επενδύοντα τις κυψελίδες). Εντούτοις, μόνο το θετικό αποτέλεσμα των φλεγμονωδών και ενδοθηλιακών κυττάρων ελήφθη υπόψιν για την στατιστική ανάλυση. Η έκταση της

έκφρασης των ICAM-1 και VCAM-1 στα φλεγμονώδη κύτταρα αξιολογείται ημιποσοτικά σε κλίμακα του 1 έως 3 ως εξής:

1: καθόλου ή λίγα απομονωμένα θετικά κύτταρα

2: εστίες θετικών κυττάρων και ένας μεγαλύτερος αριθμός απομονωμένων κυττάρων

3: πολλαπλές εστίες θετικών κυττάρων (Koo et al 1998). Όσον αφορά την έκφραση στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ο συνολικός αριθμός αγγείων σε πέντε τυχαία επιλεγμένα πεδία σε κάθε πλακάκι μετρήθηκε σε 200x ενίσχυση/μεγέθυνση. Οι αξιολογήσεις εκτελούντο τυφλά και ανεξάρτητα, από δύο παθολογοανατόμους. Η εκ του παρατηρητού μεταβλητότητα σε όλες τις περιπτώσεις ήταν <5%. Σε περίπτωση διαφωνίας, τα πλακίδια επαναξιολογούνται από κοινού, έτσι ώστε να προκύψει συναίνεση.

2.1.6. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ PCEB-ACE

Γιά την αναλυτική περιγραφή ο αναγνώστης παραπέμπεται σε προηγούμενες μελέτες του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης του τριχοειδικού ενδοθηλίου του πνεύμονος (PCEB-ACE) (Orfanos et al 1994, 2002, 1999).

Το ACE του πνευμονικού ενδοθηλίου είναι ένα εκτοένζυμο με ομοιογενή κατανομή στην επιφάνεια του αυλού του ΕΚ, με την καταλυτική του πλευρά εκτεθειμένη προς το αίμα. Έχει άμεση πρόσβαση σε ουσίες που κυκλοφορούν στο αίμα και η δραστηριότητα του μπορεί να μετρηθεί *in vivo* με μεθόδους τύπου «**αραιώσης του δείκτη**». Εξαιτίας των πολύ υψηλών συγκεντρώσεων του ενζύμου στα τριχοειδή, η μέτρηση της δραστηριότητας του πνευμονικού ACE σε αυτές τις μελέτες, είναι κατ' ουσίαν ισοδύναμη με την μέτρηση της δραστηριότητας του ACE, του συνδεδεμένου με το ενδοθήλιο των πνευμονικών τριχοειδών (PCEB). Αυτή η μέθοδος προσφέρει ποσοτικούς δείκτες οι οποίοι μπορούν να κάνουν διάκριση μεταξύ ανωμαλιών δευτεροπαθών της ίδιας της **δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου και ανωμαλιών σχετιζομένων με την ελάττωση της πνευμονικής αγγειακής επιφάνειας**.

Η δραστηριότητα του ενζύμου εκφράζεται ως **1**. διαπνευμονική υδρόλυση του υποστρώματος (αντανακλώντας την ενζυμική δραστηριότητα ανά τριχοειδές) και ως **2**. δείκτης A_{max}/K_m γιά την λειτουργική τριχοειδική επιφάνεια (FCSA) (αντανακλώντας την ενζυμική δραστηριότητα ανά αγγειακή κοίτη) σχετιζόμενη τόσο με τη ποσότητα όσο και με την λειτουργική ακεραιότητα του ενζύμου.

Ο ποσοστιαίος μεταβολισμός (%M), και το ν (αρνητικός νεπέρειος λογάριθμος του 1-M) απεικονίζουν την δραστηριότητα του ACE ανά τριχοειδές.

Η A_{max}/K_m δίδεται από τον τύπο $A_{max}/K_m = Q_p \times \nu$ όπου K_m , είναι η σταθερά Michaelis–Menten, Q_p είναι η πνευμονική ροή πλάσματος και ν ο αρνητικός Νεπέρειος λογάριθμος του (1-M), αντίστοιχα.

Η εξίσωση για την Q_p είναι $Q_p = CO \times (1-Hct)$

Δύο προσδιορισμοί της δραστηριότητας της μίας διάβασης του συνθετικού υποστρώματος 3H -benzoyl-Phe-Ala-Pro (3H -BPAP) του ενζύμου έγινοντο ως εξής: η 1^η μετά την παρασκευή των αγγείων και την σταθεροποίηση του πειραματοζώου και η 2^η δύο ώρες μετά από την ανάταξη του αιμορραγικού shock. Η επιλογή του συγκεκριμένου πρωτοκόλλου αυτών των δύο μετρήσεων και όχι άλλων εμβόλιμων μετρήσεων βασίσθηκε σε πιλοτικά πειράματα, όπου 2 νορμοξαιμικά πειραματόζωα μετρήθησαν στα 60min της ανάταξης και ένα υποξαιμικό (Hypox-Res) στο τέλος της περιόδου του shock. Αυτά αποσταθεροποιήθηκαν και κατέληξαν λίγο μετά την εμβόλιμη μελέτη. Οπότε επελέγησαν οι 2 μετρήσεις.

Χρησιμοποιήθηκαν τα 1,2 ml διαλύματος στα οποία περιέχετο 1 μCi 3H -BPAP(22.2 Ci/mmol) για μέτρηση. Τα 0.9ml εγχύοντο γρήγορα από τον καθετήρα της σφαγίτιδας φλέβας. Ταυτόχρονα, ακολουθούσε συλλογή αρτηριακού αίματος από την καρωτίδα (περισταλτική αντλία Coleman) σε έναν κλασματικό συλλέκτη (Gilson), με ταχύτητα προώθησεως σε 1 σωλήνα ανά 0.6 δευτερόλεπτα (0.57 mL αίμα/σωλήνα).

Οι δοκιμαστικοί σωλήνες περιείχαν 1.75 mL NS 0.9% με EDTA 5 mmol/L και 6.8 mmol/L από 8-υδροξυκινολινό5-σουλφονικό οξύ, προς αποτροπή περαιτέρω δράσης του ACE του πλάσματος, και ηπαρίνη 1000IU/L. Συνελέγησαν 15 σωληνάρια με δείγματα αίματος. Επιπλέον 4 σωληνάρια που περιείχαν 2 ml διάλυμα STOP, 0.57 mL αίμα που είχε συλλεγεί πριν την χορήγηση του ισοτόπου και 0.01 ml μείγμα ισοτόπου χρησιμοποιήθηκαν γιά να υπολογισθεί η χρησιμοποιηθείσα ραδιενέργεια (3H) στο αρτηριακό πλάσμα πριν τον δεύτερο υπολογισμό της δραστηριότητας του ενζύμου. Έτσι απεκλείετο η πιθανότητα η 2η μέτρηση να επηρεάζετο από τα

υπολείμματα των βασικών τιμών. Μετά το τέλος της λήψεως χορηγείτο στα πειραματόζωα R/L σε ποσότητα τριπλή από το αίμα που αφαιρέθηκε. .

Όλες οι μετρήσεις έγιναν σε εκπνοή σε συνθήκες ζώνης III.

Το αρτηριακό pH, PO₂, PCO₂, και αιματοκρίτης ελαμβάνοντο μετά την κάθε λήψη.

Υπολογισμοί των παραμέτρων δραστηριότητας ACE

Υπό συνθήκες πρώτης τάξεως ενζυμικής αντίδρασης ($[S] \ll K_m$), η Henri-Michaelis-Menten εξίσωση η διαπνευμονική υδρόλυση (v) και ο ποσοστιαίος μεταβολισμός του 3H-BPAP (%M), διορθωμένα για το cis-ισομερές μη ενεργό κλάσμα του υποστρώματος (nrf) υπολογίστηκε με τις κάτωθι εξισώσεις :

$$v = [E] \times t_c \times k_{cat} / K_m = \ln \{ (1 - nrf) / ([S] / [S_0] - nrf) \} \quad (1)$$

όπου $[E]$, t_c , k_{cat} , K_m είναι η συγκέντρωση του υποστρώματος, ο τριχοειδικός χρόνος διέλευσης, η καταλυτική σταθερά, η σταθερά Michaelis-Menten. Τα σύμβολα $[S]$ και $[S_0]$ αντιστοιχούν στην αρχική συγκέντρωση υποστρώματος σε $\mu\text{mol/ml}$ και στην ζώσα συγκέντρωση υποστρώματος στο χρόνο t_c .

$$\%M = 100 \times \{ ([S_0] - [S]) / ([S_0] \times (1 - nrf)) \} \quad (2)$$

Τα στοιχεία αναλύθηκαν περαιτέρω με τη χρήση της ενσωματωμένης εξίσωσης Henri-Michaelis-Menten όπως τροποποιήθηκαν από τους Catravas και White:

$$A_{max} / K_m = E \times k_{cat} / K_m = Q_p \times v \quad (3)$$

όπου E , και Q_p είναι η συνολική ενζυμική μάζα που συμμετέχει στην αντίδραση, και η πνευμονική ροή πλάσματος. Η Q_p υπολογίζεται ως $Q_p = CO \times (1 - Hct)$, ενώ η καρδιακή παροχή (CO) υπολογίζεται όπως προηγουμένως περιγράφεται από τους [Catravas & White 1984](#).

Τόσο ο ποσοστιαίος μεταβολισμός (%M), όσο και το v αντικατοπτρίζουν την δραστηριότητα του ACE στο επίπεδο του τριχοειδούς (ως εξαρτώμενα από την συγκέντρωση του ενζύμου και τον χρόνο ροής διά του τριχοειδούς), ενώ η A_{max} / K_m αντικατοπτρίζει την δραστηριότητα του ACE ανά αγγειακό δένδρο (ως ευθέως ανάλογη της ολικής μάζας του ενζύμου που συμμετέχει στην αντίδραση) και μπορεί να θεωρηθεί αξιόπιστη μέτρηση ποσοτική και ποιοτική της λειτουργικής τριχοειδικής επιφάνειας ([Orfanos et al 1999](#)).

2.1.7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τα δεδομένα εντός του κειμένου και των πινάκων 6 και 7 παρουσιάζονται ως μέσες τιμές \pm σταθερό σφάλμα. Τα ίδια δεδομένα στους πίνακες 5 και 8 και στις εικόνες 1 και 2 παρουσιάζονται ως διάμεσες τιμές με (25-75) εκατοστιαία διαστήματα. Για τις στατιστικές συγκρίσεις χρησιμοποιήθηκαν το Wilcoxon's rank sum test, το Mann-Whitney U και το Fisher's exact test, στις περιπτώσεις όπου χρειαζόταν.

Οι στατιστικές διαφορές θεωρήθηκαν σημαντικές όταν η πιθανότητα να οφείλονται σε τυχαία διακύμανση ήταν μικρότερες από 5% ($p < 0.05$).

2.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΑΙΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ.

Η υποξαιμική επαναιμάτωση (HR) κλινικά ευόδωσε την αιμοδυναμική ευστάθεια ως αυτή εκφράζεται από την μέση αρτηριακή πίεση (ΜΑΠ), την καρδιακή παροχή (cardiac output/CO), την ροή πλάσματος της πνευμονικής κυκλοφορίας (pulmonary plasma flow/Q_p), όπως και τις τιμές των αερίων αίματος στην παρούσα μελέτη.

Στον **πίνακα 5** αναφέρονται ως διάμεσες τιμές τα αποτελέσματα των μέτρησεων των **Q_p** και **CO**, της **ΜΑΠ**, του **αιματοκρίτου** και των **αερίων αίματος** στην αρχική τιμή αναφοράς (baseline) και στις 2 ώρες μετά την επαναιμάτωση (Post-Resuscitation).

Οι μέσες τιμές±σταθερό σφάλμα της **ΜΑΠ** στην αρχική τιμή αναφοράς ήταν για τα νορμοξαιμικά (**Normox-Res Group**) (**112 ±4 mm Hg**) και για τα υποξαιμικά (Hyrox-Res Group) (**101±2 mmHg**), οπότε δεν εμφάνιζαν στατιστικώς σημαντική διαφορά.

Στις 2 ώρες μετά την επαναιμάτωση η ΜΑΠ των νορμοξαιμικών πειραματοζώων (**93±4 mmHg**), ήταν χαμηλότερη από την αντίστοιχη ΜΑΠ των υποξαιμικών πειραματοζώων (**107±1 mmHg**), στατιστικώς σημαντικά ($p<0.05$). Ομοίως στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p<0.05$) είχε η ελεγχόμενη ΜΑΠ εν σχέσει με την τιμή αναφοράς (**93±4 vs 112±4**), δηλαδή όπως και της βασικής ΜΑΠ εντός της ίδιας ομάδος .

Αντιθέτως **καμμία μεταβολή** δεν σημειώθηκε στην ΜΑΠ των Hyrox-Res, στην βασική και την μετά την επαναιμάτωση μέτρηση (**101 ± 2 vs. 107±1, p=NS**). Αυτή η ομάδα εν τούτοις, ενεφάνισε μία αξιοσημείωτη αύξηση της **Q_p** μετά την ανάταξη εν σύγκριση πάντα με την βασική (**629 ± 100 vs 338 ± 39 mL/min**, αντιστοίχως $p<0.05$) και μία τάση σε υψηλότερη **CO** (**871 ± 140 vs 500 ± 67 mL/min**, αντιστοίχως $p <0.06$).

Πίνακας 5. Αιμοδυναμικές παράμετροι μετρηθείσες ή υπολογισθείσες με την μέθοδο αραιώσης δείκτη (indicator-dilution technique), στην αρχική τιμή αναφοράς κατάσταση (baseline) και στην 2hrs μετά την ανάταξη (Post-Resuscitation), στους υποβληθέντες σε αιμορραγικό shock κονίκλους που έλαβαν ή νορμοξαιμική ανάταξη (Normox-Res) ή υποξαιμική ανάταξη (Hypox-Res).

Οι τιμές αναφέρονται ως διάμεση τιμή (25-75 εκατοστιαίες τιμές).

Parameter	NORMOX-RES Group		HYPOX-RES Group	
	Baseline	Post-Resuscitation	Baseline	Post-Resuscitation
CO (mL/min)	380 (348-447)	537 (275-734)	450 (423-485)	952 (643-1004)
Q _p (mL/min)	270 (232-308)	365 (209-477)	324 (288-325)	683 (457-752) [*]
MAP (mm Hg)	91(77-94)	80 (65-86)^{+,*}	88 (83-95))	94 (66-95)
Hct (%)	33,11 (29-38)	25,82 (22-29) [*]	34 (30-38)	28 (22-34) [*]
pH	7,4 (7,38-7,43)	7,3 (7,29-7,37)	7,39 (7,36-7,4)	7,38 (7,31-7,4)
PaCO ₂ (mm Hg)	32 (29-34)	36 (34-41)	37 (34-37)	38 (36-38)
PaO ₂ (mm Hg)	98 (94-102)	88 (87-120)	97 (91-98)	108 (104-116)

CO: καρδιακή παροχή, Q_p: ροή της πνευμονικής κυκλοφορίας, MAP: μέση αρτηριακή πίεση, Hct : αιματοκρίτης, PaCO₂: μερική πίεση CO₂, PaO₂, μερική πίεση O₂ .

^{*}p<0.05 baseline vs Post-Resuscitation / εντός της ίδιας ομάδος,

⁺p<0.05 Normox-Res vs Hypox-Res / ανάμεσα στις ομάδες

ΔΕΙΚΤΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ACE ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

Η υπεροχή της υποξαιμικής επαναιμάτωσης (HR) έναντι της νορμοξαιμικής καταδεικνύεται και στο κριτήριο της λειτουργικότητας του PCEB-ACE έτσι όπως αυτή εκφράζεται από τους δείκτες δραστηριότητας του PCEB-ACE (ποσοστιαίο μεταβολισμό και υδρόλυση ν) και την λειτουργική αρδευόμενη τριχοειδική επιφάνεια (FCSA).

Στον **πίνακα 6** αναφέρονται αναλυτικά οι μέσες τιμές και το σταθερό σφάλμα

από την μέτρηση του ποσοστιαίου μεταβολισμού (%M), της υδρόλυσης (v), και της A_{max}/K_m στην αρχική τιμή αναφοράς και 2ώρες μετά την επαναιμάτωση (Post-Resuscitation).

Στο **κυτιογράφημα απολήξεων 1α** απεικονίζεται ο ποσοστιαίος μεταβολισμός (%M), η υδρόλυση στο **1β**, η A_{max}/K_m στο **1γ**, επίσης στην αρχική τιμή αναφοράς και 2ώρες μετά την επαναιμάτωση. Πρόκειται για τις διάμεσες τιμές, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος, και τα 5–95 εκατοστημόρια τους.

Στις 2ώρες μετά την επαναιμάτωση τόσο ο %M, όσο και το v διατηρούν τις τιμές τους αναλλοίωτες (μη στατιστικώς σημαντικές διαφορές) μόνο στην υποξαιμική ομάδα.

Στην νορμοξαιμική ομάδα παρατηρείται στατιστικά σημαντική μείωση της ενζυμικής δραστηριότητας (%M, v) στις 2 ώρες μετά την επαναιμάτωση, τόσο εν σχέσει με την αρχική τιμή αναφοράς τους, όσο και με την μέτρηση στην 2ώρες μετά την επαναιμάτωση της υποξαιμικής ομάδας ($p < 0,05$).

Οι τιμές της A_{max}/K_m εντός της νορμοξαιμικής ομάδος δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Αντιθέτως υποξαιμική ομάδα η A_{max}/K_m παρουσίασε στατιστικά σημαντική αύξηση ($p < 0,05$) στις 2ώρες μετά την επαναιμάτωση (Post-Resuscitation) εν σχέσει με την αρχική τιμή αναφοράς (baseline).

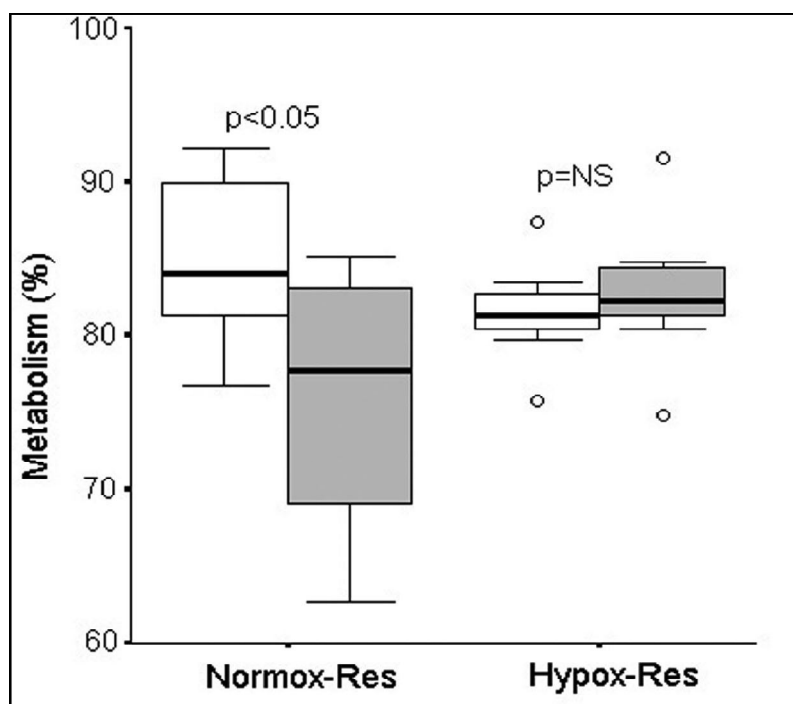
Πίνακας 6. Δείκτες λειτουργικότητας του PCEB-ACE, στην αρχική τιμή αναφοράς κατάσταση (baseline) και 2ώρες μετά επαναιμάτωση (Post-Resuscitation).

	NORMOX-RES-Group		HYPOX- RES Group	
	Baseline	Post-Resuscitation	Baseline	Post-Resuscitation
%M	85 ±2	76 ± 3 *	82 ±1	82±2 ⁺
v	1,95±0,1	1,4±0,1 *	1,70 ± 0,1	1,8± 0,1 ⁺
A_{max}/K_m (ml/min)	529±72	600±88	569±70	816±80 *

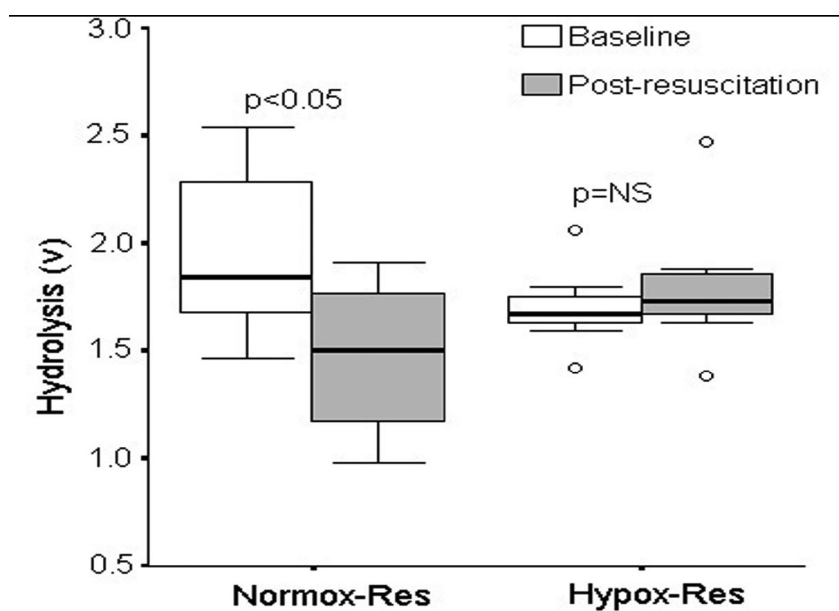
Οι τιμές αναφέρονται ως μέση τιμή ± σταθερό σφάλμα (στατιστικά σημαντικό $p < 0,05$). Υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ αρχικής τιμής αναφοράς (baseline) και **2hrs μετά αναζωογόνηση** στα νορμοξαιμικά πειραματόζωα

* $p < 0,05$ Post-Resuscitation vs baseline,

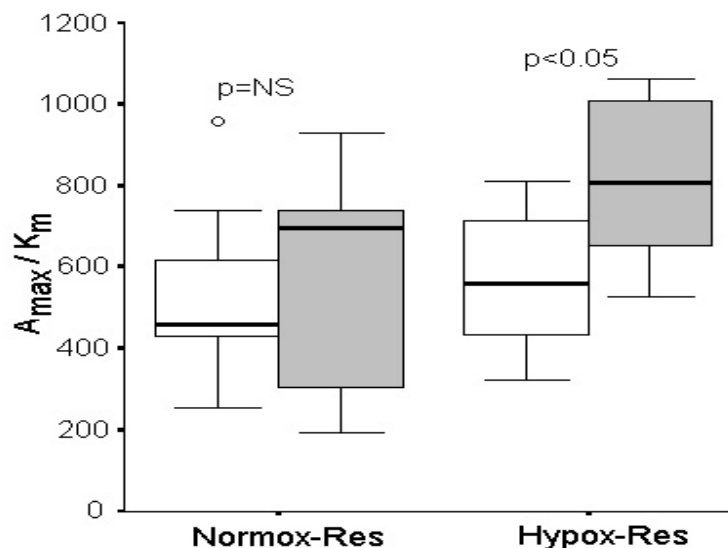
⁺ $p < 0,05$ Post-Resuscitation Normox-Res vs Hypox Res



Κυτιογράφημα απολήξεων **1α**.%M του υποστρώματος H-benzoyl-Phe-Ala-Pro
 Στατιστικώς σημαντική μείωση μόνο στην νορμοξαιμική ομάδα



Κυτιογράφημα απολήξεων **1β**. Υδρόλυση του ενζύμου (εκφράζεται από το v)
 Στατιστικώς σημαντική μείωση στην μόνο νορμοξαιμική ομάδα



Κυτιογράφημα απολήξεων **1γ**. Η κινητική σταθερά A_{\max}/K_m
 Στατιστικώς σημαντική αύξηση στην υποξαιμική ομάδα

Εικόνα 1. Τα Κυτιογραφήματα απολήξεων (Box plots) δείχνουν τις διάμεσες τιμές ως γραμμές, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος ως κουτιά, και τα 5–95 εκατοστημόρια ως απολήξεις του ποσοστιαίου μεταβολισμού του συνθετικού υποστρώματος ^3H -benzoyl-Phe-Ala-Pro (%M στο 1α) της υδρολύσεως (ν στο 1β), της λειτουργικώς αρδευομένης τριχοειδικής επιφάνειας [FCSA] (A_{\max}/K_m στο 1γ).

Τα %M και ν αντικατοπτρίζουν την πνευμονική ενδοθηλιακή δραστικότητα του ACE ανά τριχοειδές και η A_{\max}/K_m την πνευμονική ενδοθηλιακή δραστικότητα του ACE ανά αγγειακό δένδρο.

Normox-Res: κόνικλοι με νορμοξαιμική ανάταξη, Hypox-Res: υποξαιμική ανάταξη.

Τιμές **p**: διαφορές μέσα στις ομάδες. NS: non-significant; κύκλοι: ακραίες τιμές

ΔΕΙΚΤΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΤΟΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΟ ΙΣΤΟ- ΜΡΟ.

Η υποξαιμική επαναιμάτωση (HR) μειώνει την οξεία πνευμονική βλάβη ως αυτή εκφράζεται από την μειωμένη συσσώρευση ουδετερόφιλων στον πνεύμονα στα υποξαιμικά πειραματόζωα εν σχέσει με τα νορμοξαιμικά πειραματόζωα, ως αυτή μετράται από την μυελοπεροξειδάση (MPO) (πίνακας 7).

Οι μέσες τιμές \pm σταθερό σφάλμα της νορμοξαιμικής ομάδος ήταν $8,7 \pm 0,5$ U/g έναντι της υποξαιμικής στην οποία ήταν $4,6 \pm 0,75$ U/g ($p < 0,01$).

ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS ΣΤΟΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΟ ΙΣΤΟ- MDA.

Η υποξαιμική επαναιμάτωση (HR) μειώνει το οξειδωτικό stress στον πνευμονικό ιστό όπως αυτό εκφράζεται από την μειωμένη συγκέντρωση μαλονδιαλδεϋδης (MDA) στον πνεύμονα της υποξαιμικής ομάδος εν σχέσει με της νορμοξαιμικής ομάδος (πίνακας 7). Οι μέσες τιμές±σταθερό σφάλμα των Normox-Res ήταν 0.45 ± 0.02 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein έναντι των Hyrox-Res στα οποία ήταν 0.34 ± 0.02 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein ($p<0.01$).

Πίνακας 7. Αναλυτικά αποτελέσματα της μέτρησης MPO και MDA δεξιού πνεύμονος

	NORMOX-RES-Group	HYPOX- RES Group	p
MPO	$8,7 \pm 0,5$ U/g	$4,6 \pm 0,75$ U/g	<0,01
MDA	$0,45\pm 0,02$ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ pr	$0,34\pm 0,02$ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ pr	<0,01

Οι τιμές αναφέρονται ως μέση τιμή \pm σταθερό σφάλμα (στατιστικά σημαντικό $p<0.05$). Υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά MPO και MDA ιστού πνεύμονος μεταξύ Normox-Res και Hyrox Res

ΔΕΙΚΤΕΣ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

Κατά την ιστοπαθολογική βαθμονόμηση της οξείας πνευμονικής βλάβης (lung injury score) βλάβη υπέστησαν και οι δύο ομάδες, αλλά ήταν μέτρια για την υποξαιμική ομάδα, ενώ για την ομάδα ελέγχου (Normox-Res Group) ήταν σοβαρή βλάβη. Οι μέσες τιμές και το σταθερό σφάλμα ήταν $10\pm 0,6$ για τα Normox-Res, εν σχέσει με το $6,3\pm 1$ των Hyrox -Res ($p<0,01$).

ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΕΙΑΣ

Η υποξαιμική ομάδα εν σχέσει με την νορμοξαιμική εμφάνισε σημαντικά μικρότερο αριθμό αγγείων κερωσμένων για VCAM-1 και ICAM-1.

Οι μέσες τιμές και το σταθερό σφάλμα ήταν για τα VCAM-1 (24 ± 3 για την υποξαιμική ομάδα έναντι 45 ± 5 για την νορμοξαιμική, με $p < 0,05$), ενώ για τα ICAM-1 (27 ± 4 για την υποξαιμική ομάδα έναντι 103 ± 22 της νορμοξαιμικής με $p < 0,01$).

Η υποξαιμική ομάδα εν σχέσει με την νορμοξαιμική εμφάνισε σημαντικά μικρότερο αριθμό θετικά κεχρωσμένων φλεγμονωδών κυττάρων VCAM-1 ($1,1 \pm 0,1$ για την υποξαιμική ομάδα έναντι $2,5 \pm 0,2$ της νορμοξαιμικής, με $p < 0,01$) και ICAM-1 ($1,1 \pm 0,1$ για την υποξαιμική ομάδα έναντι $2,2 \pm 0,2$ της νορμοξαιμικής, αντίστοιχα με $p < 0,05$), (πίνακας 8, Εικόνα 2 c, d, e και f).

Αν και δεν ήταν σκοπός της παρούσας μελέτης, σημειώνεται ότι το μέγεθος της έκφρασης των ICAM-1 ήταν πολύ μεγαλύτερο στα επιθηλιακά παρά στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αληθές είναι το αντίθετο, όσον αφορά την ένταση της έκφρασης στα ενδοθηλιακά κύτταρα των μικρότερων αγγείων.

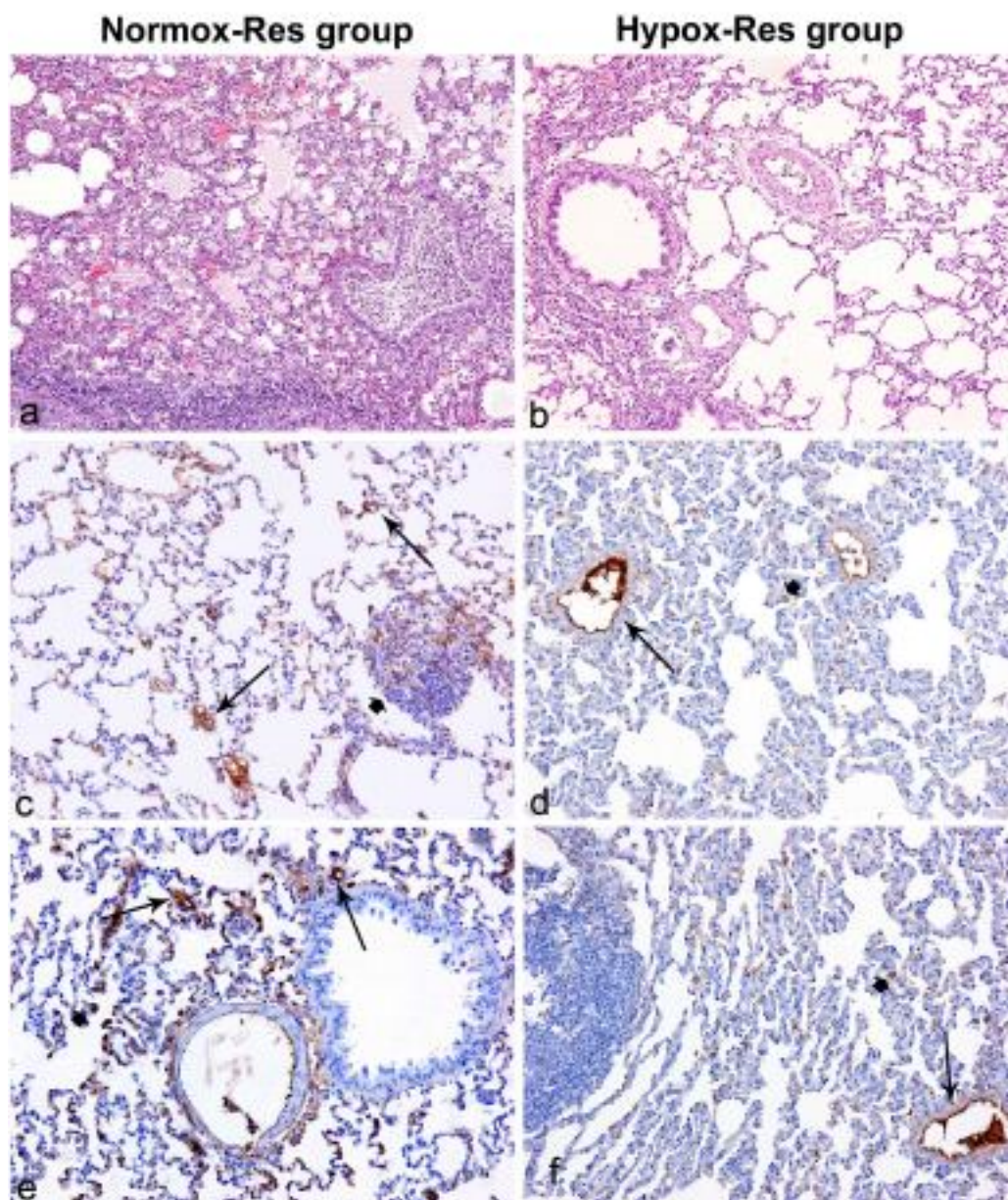
Πίνακας 8. Αναλυτικά αποτελέσματα ιστοπαθολογίας και ανοσοϊστοχημείας. Συγκρίσεις μεταξύ της ημιποσοτικής έκφρασης των ICAM και VCAM στα φλεγμονώδη κύτταρα και του αριθμού της έκφρασης των ίδιων υποδοχέων, στα ενδοθηλιακά κύτταρα των θετικών αγγείων στους Normox-Res ή Hypox-Res κονίκλους

Παράμετροι	Normox-Res Group	Hypox-Res Group	p
Παθολογοανατομική βαθμονόμηση (score)	10 (9-11)	7 (4-8,5)	<0,01
VCAM-1 θετικά αγγεία ^a	47 (33-56)	24 (21.5-27.5)	<0,05
ICAM-1 θετικά αγγεία ^a	88 (65-110)	25 (21-30)	<0,01
VCAM-1 θετικά σε φλεγμονώδη κύτταρα ^b	3 (2-3)	1(1-1)	<0,01
ICAM-1 θετικά σε φλεγμονώδη κύτταρα ^b	2 (2-3)	1 (1-1)	<0,01

VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1; ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1

^aΟλικός αριθμός αγγείων με θετικώς κεχρωσμένα ενδοθηλιακά κύτταρα σε 5 τυχαία πεδία στα 200x.

^b ημιποσοτική βαθμονόμηση (score 1 ως 3) της εκτάσεως της έκφρασης των ICAM-1 και VCAM-1 στα φλεγμονώδη κύτταρα.



Εικόνα 2. Ιστοπαθολογία πνευμόνων (a-b) x100, ανοσοϊστοχημική έκφραση ICAM-1 (c-d) και VCAM-1 (e-f) x200, αντιπροσωπευτική των Normox-Res (αρ. στήλη) και των Hypox-Res (δεξιά στήλη):

a) Σοβαρή βλάβη (score 11),

b) ήπια βλάβη (score 3),

c) Υψηλή έκφραση ICAM-1 στα φλεγμονώδη κύτταρα (κεφαλή βέλους) και αγγειακό ενδοθήλιο (βέλη),

d) Χαμηλή έκφραση ICAM-1 στα φλεγμονώδη κύτταρα (κεφαλή βέλους) και στο αγγειακό ενδοθήλιο (βέλη),

e) Υψηλή έκφραση VCAM-1 στα φλεγμονώδη κύτταρα (κεφαλή βέλους) και στο αγγειακό ενδοθήλιο (βέλη),

f) Χαμηλή έκφραση VCAM-1 στα φλεγμονώδη κύτταρα (κεφαλή βέλους) και στο αγγειακό ενδοθήλιο (βέλη).

2.3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα ερευνητική μελέτη στα πλαίσια της εκπόνησης διδακτορικής διατριβής, διαπιστώνεται ότι η οξεία πνευμονική βλάβη που προκαλείται στα πλαίσια της ανάταξης του αιμορραγικού shock στους κόνικλους μειώνεται σημαντικά μετά από υποξαιμική επαναιμάτωση των ισχαιμούντων ιστών. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής αποτελούν *in vivo* μαρτυρία ότι :

- (1) η νορμοξαιμική ανάταξη του αιμορραγικού shock συσχετίζεται με εμφάνιση δυσλειτουργίας των ενδοθηλιακών κυττάρων των πνευμονικών τριχοειδικών αγγείων ενώ,
- (2) η βαθμιαία επανεισαγωγή του οξυγόνου κατά την διάρκεια της υποξαιμικού τύπου επαναιμάτωσης του shock φαίνεται ότι προλαμβάνει την βλάβη αυτή.

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώνεται το γεγονός ότι στα υποξαιμικά πειραματόζωα (Hypox-Res) δεν επηρεάζεται η ενζυμική δραστηριότητα του συνδεδεμένου με το ενδοθήλιο, μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ACE), ενώ παρατηρείται σημαντικά λιγότερη ICAM-1 και VCAM-1 έκφραση στα πνευμονικά τριχοειδή και μειωμένη MPO δραστηριότητα, αποκαλύπτοντας την μειωμένη ενδοθηλιακή ενεργοποίηση, αλλά και τη συμβολή των ουδετερόφιλων (PMN) στην προκληθείσα βλάβη μετά την νορμοξαιμική ανάταξη των ισχαιμούντων ιστών. Η γενικότερη προστατευτική επίδραση της υποξαιμικής ανάταξης του αιμορραγικού shock επιβεβαιώνεται τόσο από το χαμηλό βαθμό πνευμονικής βλάβης στην παθολογοανατομική εξέταση των παρασκευασμάτων, όσο και από τη μειωμένη υπεροξειδωση λιπιδίων όπως επιβεβαιώνουν τα χαμηλά επίπεδα MDA των πνευμονικών ιστών.

Η ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων με συνέπεια την επαγωγή των μορίων προσκόλλησης, η συσσώρευση ουδετερόφιλων, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ενδοθηλίου και ουδετερόφιλων κυττάρων, και η ενδοθηλιακή –λειτουργική ή/και δομική- βλάβη φαίνονται να είναι μεταξύ των πλέον πρώιμων γεγονότων που πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της ανάταξης της καταπληξίας (Pascual et al 2002).

Η αβεβαιότητα των βιβλιογραφικών δεδομένων και η πολυπλοκότητα των

αλληλεπιδράσεων μεταξύ ενδοθηλίου και φλεγμονωδών κυττάρων (Doerschuk et al 2001) υπογραμμίζουν την ανάγκη για την προσεκτική ερμηνεία της ανοσοϊστοχημείας, πόσο μάλλον όσον αφορά τα μόρια προσκόλλησης στο πειραματικό μοντέλο της μελέτης μας. Συγκεκριμένα στην Εικόνα 1, στην αριστερή στήλη -προέρχεται από νορμοξαιμικό ζώο- διακρίνεται ότι αν και τα επιθηλιακά κύτταρα των κυψελίδων παρουσιάζουν σε μεγαλύτερη έκταση την έκφραση των ICAM-1, τα ενδοθηλιακά κύτταρα των μικρότερων σε διάμετρο αγγείων βάφονται με υψηλότερη ένταση, υποδεικνύοντας ότι ο μηχανισμός της προσκόλλησης μπορεί να ρυθμιστεί πρωτίστως από την έκφραση των μορίων προσκόλλησης του ενδοθηλίου. Αυτό επιβεβαιώνεται από την παρατήρηση ότι η ενδοθηλιακή έκφραση των ICAM-1 αυξάνεται κατά 4,2 φορές μετά από ενστάλαξη E. Coli στους αεραγωγούς (Burns 1994). Ήδη είναι γνωστό ότι η ιδιοσυστατική έκφραση των ICAM-1 σε επιθηλιακά κύτταρα είναι 22-φορές μεγαλύτερη συγκριτικά με τα ενδοθηλιακά κύτταρα όπως αναδεικνύεται σε προηγούμενη μελέτη (Burns et al 1994). Η παρατήρηση επιβεβαιώνει τα δικά μας ευρήματα. Είναι ενδιαφέρον, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 2**, από ένα υποξαιμικό ζώο, ότι η απουσία χρώσης στα μικρά αγγεία συνδέεται με την απουσία έκφρασης στα επιθηλιακά κύτταρα, παρά την (θετική) χρώση μεγαλύτερου αγγείου. Η διαφορά στην χρώση των μικρών αγγείων μεταξύ των δύο ομάδων δείχνει ότι η υποξαιμική ανάταξη μειώνει την επαγόμενη έκφραση των ICAM-1. Αυτή η έκφραση απαντάται στην νορμοξαιμική ανάταξη. Σχετικά με την συνολική ιστοπαθολογική εκτίμηση, μπορεί να είναι αμφισβητήσιμο το εάν η αυξημένη ουδετεροφιλική διήθηση προέρχεται από αυξανόμενη "καθήλωση"(margination) ή "απομάκρυνση" (sequestration) των ουδετεροφίλων. Ο όρος "καθήλωση" περιγράφει την υπερβολική συσσώρευση ουδετεροφίλων στους μη-φλεγμονώδεις πνεύμονες δεδομένου ότι η αιτιολογία είναι κυρίως μηχανική, οφειλομένη σε μια απόκλιση μεγέθους μεταξύ ουδετεροφίλων και του αντίστοιχου τμήματος των τριχοειδών αγγείων, με συνέπεια τον παρατεταμένο χρόνο διέλευσης μέσω του κυψελιδοτριχοειδικού αγγειακού δικτύου (Doerschuk et al 1987). Ο όρος "απομάκρυνση" υπονοεί την ενεργητική διαδικασία, μέσω της οποίας τα ουδετερόφιλα συγκεντρώνονται χημειοτακτικά στους φλεγμονώδεις πνεύμονες, προτού μεταναστεύσουν στην συστηματική κυκλοφορία, ή κινητοποιούνται μαζικά προς την καθεαυτή ενδοθηλιακή βλάβη (Doerschuk et al 2001). Οι αλλαγές που αφορούν συνθήκες έντονων διατμηματικών τάσεων σχετίζονται με την υποξική πνευμονική αγγειοσύσπαση, γεγονός που αυξάνει το χρόνο διέλευσης, και κατά συνέπεια το χρόνο "καθήλωσης" των ουδετεροφίλων. Όμως αυτό δεν ισχύει στην

περίπτωση των υποξαιμικώς αναζωογονημένων ζώων, στα οποία η ουδετεροφιλική διήθηση παραμένει χαμηλή. Αντίθετα, η σημαντική ουδετεροφιλική “απομάκρυνση” παρατηρήθηκε στους πνεύμονες των νορμοξαιμικώς αναζωογονημένων ζώων δεδομένου ότι η συσσώρευσή τους μπορεί να αποδοθεί σε φλεγμονή, παρά σε μηχανικά αίτια για τους ακόλουθους λόγους:

(1) η αύξηση MPO έχει αποδειχθεί ότι επιδρά στην κινητοποίηση των ουδετεροφίλων κατά τη διάρκεια της οξείας πνευμονικής βλάβης (ALI) από λιποπολυσακχαρίτες (LPS) (Chignard et al 2000),

(2) η αυξημένη έκφραση ICAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα όχι μόνο έχει συνδεθεί με την πνευμονία (Burns et al 1994) αλλά επιπροσθέτως με την φλεγμονώδη διήθηση κυττάρων.

Διάφορες παρεμβάσεις που στοχεύουν στην φλεγμονώδη διαδικασία πνευμόνων έχουν μελετηθεί στην θεραπεία του αιμορραγικού shock. Τα υγρά της ανάταξης με αυξημένη ωσμωμοριακότητα εμφανίζονται να μειώνουν την ενεργοποίηση των λευκών αιμοσφαιρίων (Kramer et al 2003), την έκφραση μορίων προσκόλλησης και την συγκόλληση λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Martinez-Mier et al 2001, Pascual et al 2002). Από αυτή την άποψη, η χρήση της λευκωματίνης 25% άσκησε τα αντιοξειδωτικά της αποτελέσματα και μείωσε την συσσώρευση ουδετεροφίλων στον πνεύμονα (Powers et al 2003a). Ομοίως, τα υπέρτονα κρυσταλλοειδή διαλύματα ασκούν ανοσοτροποποιητικά αποτελέσματα στα κυψελιδικά μακροφάγα εμφανίζοντας έτσι αντιφλεγμονώδη απάντηση (Powers et al 2003 b). Μάλιστα η αύξηση κατά 10-20 mOsm/kg της ωσμωτικότητας επηρεάζει την αποκοκκίωση, την παραγωγή ROS, την έκφραση μορίων προσκόλλησης, την παραγωγή κυττοκινών, και την φαγοκυτταρική ικανότητα. Όμως ανευρέθη ότι οι ανοσοτροποποιητικές επιδράσεις όπως η αναστολή της εκφράσεως της β2 ιντεγκρίνης στην επιφάνεια των ουδετεροφίλων και της παραγωγής των φλεγμονωδών κυτταροκινών διαμεσολαβούνται από το νάτριο ή το χλώριο και όχι από την ωσμωτικότητα (Motaharinia et al 2015). Αντιοξειδωτικά όπως η χρήση του tempol, και μιμητικά υπεροξειδίων της δισμουτάσης, με δραστηριότητα καταλασών είχαν διερευνηθεί με πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα (Izumi et al 2002, Kentner et al 2002), που εν τέλει όμως εμπλέκουν τα ROS ως αρχικό αιτιολογικό παράγοντα για την επακόλουθο φλεγμονή.

Λαμβάνοντας υπόψιν ότι οι ROS αντιπροσωπεύουν τη σημαντικότερη πηγή βλάβης κατά την επαναιμάτωση-επανοξυγόνωση, η βαθμιαία επανεισαγωγή του O₂ κατά τη διάρκεια της πρώιμης ανάταξης έχει προταθεί (Perry & Wadhwa 1988) και στην πραγματικότητα έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την παραγωγή ROS και με αυτόν τον τρόπο την πιθανή βλάβη στα όργανα. Στις μελέτες που εξετάζουν τη βαθμιαία επανεισαγωγή του O₂ (Douzinas et al 2006, 2008), γίνεται εμφανές ότι η υποξαιμική ανάταξη -έναντι της νορμοξαιμικής ανάταξης- της αιμορραγικής καταπληξίας ελαχιστοποιεί τον συστηματικό σχηματισμό ROS, την υπεροξειδωση λιπιδίων, διατηρεί τις αντιοξειδωτικές εφεδρείες και μειώνει την συστηματική φλεγμονώδη απάντηση, αποφεύγοντας την εκδήλωση τόσο της άμεσης όσο και της καθυστερημένης αιμοδυναμικής αστάθειας (Douzinas et al 2006, 2008). Όσον αφορά τον πνεύμονα, συγκεκριμένα πειραματικά στοιχεία έδειξαν ότι κατά την διάρκεια της ισχαιμίας των πνευμόνων, σε ένα απομονωμένο πρότυπο/μοντέλλο πνευμόνων αρουραίων, η υπεροξειδωση λιπιδίων αυξήθηκε με την αύξηση του εισπνεόμενου O₂. Εμποδίστηκε δε, σημαντικά με την ελλείψη του O₂, δηλαδή αερίζοντας σε ατμόσφαιρα αζώτου (Fisher et al 1991). Συμφωνώντας με τις προαναφερθείσες μελέτες, στην δική μας η νορμοξαιμική ανάταξη συνοδεύθηκε από την αυξημένη υπεροξειδωση λιπιδίων πνευμόνων, όπως αποδεικνύεται από τα υψηλά επίπεδα ιστού MDA, γεγονός που μειώθηκε από την υποξαιμική ανάταξη.

Στην τρέχουσα μελέτη η καλύτερη αιμοδυναμική κατάσταση των υποξαιμικώς αναζωογονημένων ζώων επιβεβαιώθηκε από τις αιμοδυναμικές παραμέτρους που μετρήθηκαν με την μέθοδο αραιώσεως δείκτου. Τα επίπεδα ΜΑΠ μετά την ανάταξη των υποξαιμικών ζώων ήταν σημαντικά πίο υψηλά συγκριτικά με αυτά των νορμοξαιμικών ζώων. Τα τελευταία δεν επέτυχαν τα αντίστοιχα επίπεδα με αυτά της μέτρησης στην αρχική τιμή αναφοράς κατάσταση (πίνακας 6). Επιπλέον, τα συμπεράσματα υποστηρίζουν την ευεργετική επίδραση που ασκεί η υποξαιμική ανάταξη της αιμορραγικής καταπληξίας στην ακεραιότητα του πνευμονικού ενδοθηλίου. Η αξιολόγηση της δραστηριότητας του ενδοθηλιακά συνδεδεμένου μετατρεπτικού ενζύμου (PE-ACE) παρέχει μέσον ποσοτικού προσδιορισμού της δυσλειτουργίας του πνευμονικού ενδοθηλίου. Η μείωσή της είναι ένα από τα πλέον πρώιμα σημεία πνευμονικής βλάβης σε ζωικά μοντέλα. Προηγείται των αλλαγών σε παραμέτρους όπως η οξεοβασική ισορροπία η ανταλλαγή αερίων, οι αιμοδυναμικές παράμετροι, και η αυξημένη διαπερατότητα (Orfanos et al 2004). Στους ανθρώπους, η

δραστικότητα του συνδεδεμένου στο πνευμονικό ενδοθήλιο ACE μειώνεται νωρίς στο ALI/ARDS, και η μείωσή της εμφανίζεται να συσχετίζεται με το βαθμό βλάβης των πνευμόνων και γενικής βαρύτητας ασθενειών (Orfanos et al 2000).

Όπως παρατηρείται στην παρούσα μελέτη, η αιμορραγική καταπληξία και η υποξαιμική ανάταξη της μείωσαν σημαντικά το ποσοστό του μεταβολισμού και της υδρόλυσης υποστρωμάτων, που καταδεικνύει την πτώση της δραστικότητας του πνευμονικού ενδοθηλιακού ACE στο τριχοειδικό επίπεδο (Orfanos et al 2001). Αυτή η πτώση συσχετίζεται πιθανότατα με μείωση της ενζυμικής μάζας που θα οδηγούσε σε μια μείωση της ενζυμικής συγκέντρωσης, ή/και με αλλοιώσεις των κινητικών σταθερών των ενζυμικών αντιδράσεων (εξίσωση 1). Εναλλακτικά, ο χρόνος τριχοειδικής διέλευσης θα μπορούσε να μειωθεί στις σχετικά υψηλές τιμές καρδιακής παροχής, προκαλώντας μειώσεις στον μεταβολισμό και στην υδρόλυση (εξίσωση 1). Τούτο θα συνέβαινε εάν ένα ουσιαστικό ποσό αγγείων της μικροκυκλοφορίας εμποδίζονταν από τα κυτταρικά συγκρίμματα που πιθανά παράγονται μετά την ανάταξη, μην αφήνοντας εφεδρείες από τριχοειδικά αγγεία να «επιστρατευθούν» και να δεχθούν το προσφερόμενο αίμα (Orfanos et al 2000). Σε μια τέτοια περίπτωση το αίμα θα εκινείτο με μεγαλύτερες ταχύτητες μέσα από τα εναπομένοντα βατά μικροαγγεία, μειώνοντας τον χρόνο αντίδρασης (εξίσωση 1). Αυτό το φαινόμενο εντούτοις θα έπρεπε να συνοδευθεί από μείωση της διαθέσιμης προς αντίδραση ενζυμικής μάζας, σε σύγκριση με τη βασική μέτρηση, και συνεπώς της A_{max}/K_m (Εξίσωση 3), αλλά αυτό δεν ισχύει σε αυτήν την περίπτωση. Ο μεταβολισμός και η υδρόλυση υποστρωμάτων διαμέσου του πνεύμονα, στην βασική μέτρηση, συντηρήθηκαν στα υποξικώς αναταχθέντα πειραματόζωα (Hypox-Res). Αυτό το πρότυπο συνδυάστηκε με αύξηση της A_{max}/K_m , (έκφραση της ενζυμικής δραστικότητας στο αγγειακό δένδρο) στην μετα-ανάταξη μέτρηση. Αποδίδεται κυρίως στην αμοιβαία αύξηση της πνευμονικής ροής πλάσματος (πίνακας 6 & εξίσωση $A_{max}/K_m = Q_p \times v$) και σημειώνει την αληθινή προστατευτική επίδραση της υποξαιμικής ανάταξης στην πνευμονική ενδοθηλιακή δραστικότητα του ACE.

Εάν είχαν πραγματοποιηθεί πρόσθετοι προσδιορισμοί της πνευμονικής δραστικότητας του ACE στο τέλος του shock και μια ώρα μετά από την ανάταξη, θα είχαν παράσχει συμπληρωματικές πληροφορίες για την χρονική σειρά του προαναφερθέντος φαινομένου. Εντούτοις, η οξεία λήψη σχεδόν 11 mL από το αίμα

του πειραματοζώου που χρειάζεται για κάθε μέτρηση, αντιστοιχεί περίπου σε 6,5% του συνολικού όγκου αίματος του κονίκλου (McLaughlin et al 1994) σε ακριβώς 12 sec, κάτω από συνθήκες ζώνης III (i.e. με τον αναπνευστήρα εκτός λειτουργίας στο τέλος της εκπνοής) αποδείχθηκε καταστρεπτική στα πιλοτικά πειράματα που έγιναν. Τα πειραματόζωα σε όλες τις περιπτώσεις αποσταθεροποιούνται και κατέληγαν, ενώ το πρωτόκολλο παρεμποδιζόταν όσον αφορά την εξαγωγή σαφών συμπερασμάτων, δεδομένου ότι προκαλούντο δευτερογενή φαινόμενα ισχαιμίας/επαναιμάτωσης (second hit phenomenon) σε αυτές τις λεπτές περιόδους. Αντίθετα, ο συγκριτικός προσδιορισμός της ενζυμικής δραστηριότητας που έγινε στη βασική μέτρηση και αμέσως πριν την λήξη του πειράματος ήταν πολύ καλά ανεκτός και απέδωσε αποτελέσματα.

Τα συμπεράσματά μας προτείνουν ότι η βαθμιαία επανεισαγωγή του οξυγόνου στους προηγουμένως στερημένους από οξυγόνο ισχαιμικούς ιστούς είναι λιγότερο επιβλαβής και για αυτό προτιμότερη. Εντούτοις ηχεί αντιφατικό το γεγονός ότι τα υποογκαιμικά πειραματόζωα θα αεριστούν με υποξικά μίγματα αερίου, ανεξάρτητα από τα αναφερόμενα στην βιβλιογραφία ευνοϊκά αποτελέσματα. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι αερίσαμε με υποξικά μείγματα πειραματόζωα στην φάση της αναζωογόνησης αλλά δεν αερίσαμε υποογκαιμικά πειραματόζωα. Υπάρχει, δε σε αυτό το σημείο, μια κρίσιμη διαφορά για τον ακόλουθο λόγο: δίνοντας τα υποξικά μείγματα στα υποογκαιμικά πειραματόζωα που είναι σε καταπληξία ενέχεται ο κίνδυνος να καταλήξουν από την περαιτέρω μείωση της μεταφοράς O_2 στους ιστούς. Αντίθετα στα πειραματόζωα του πειράματος μας στην φάση της αναζωογόνησης η καρδιακή παροχή αυξανόταν βαθμηδόν, αλλά και η μεταφορά O_2 στους ιστούς αυξανόταν όλο και περισσότερο. Στο πείραμα μας εφαρμόστηκε υποξικός τρόπος αερισμού ο οποίος σχεδιάστηκε επιμελώς και πραγματοποιήθηκε ελεγχόμενα με αποτέλεσμα την παρατηρηθείσα ευεργετική δράση.

Από κλινική άποψη, όσον αφορά τα ανωτέρω, το γεγονός ότι η "ακραία υποξαιμία" δεν προκαλεί επιβλαβή αποτελέσματα φαίνεται παράδοξο. Εντούτοις, μελέτη για τις εγκεφαλικές μεταβολικές αλλαγές κατά τη διάρκεια βαθμιαίας υποξίας σε νεογέννητους αμνούς έχει δείξει ότι για τιμές PaO_2 από 130 έως 33 mm Hg, οι αλλαγές του πηλίκου φωσφοκρεατίνης/ανόργανου φωσφορικού άλατος ή του ενδοκυτταρικού pH δεν ήταν σημαντικές. Μειώθηκαν όμως σημαντικά όταν τα

επίπεδα της PaO₂ μειώθηκε κάτω των 33 και 28 mm Hg, αντίστοιχα (Younkin et al 1987). Εκτός αυτού, η ήπια υποξαιμία (PaO₂=80 mmHg) (Douzinas et al 2006) παρείχε καλύτερα αποτελέσματα από την νορμοξαιμία. Τα αποτελέσματα της νορμοξαιμίας ήταν χειρότερα από εκείνα που επιτυγχάνοντο από την αληθή υποξαιμία (PaO₂=40 mmHg) (Douzinas et al 2008) κατά την ανάταξη του αιμορραγικού shock. Τέλος, από μετά την πάροδο 10 min ανάταξης, το FiO₂ αυξανόταν και ο καρδιακός δείκτης βελτιωνόταν, κι έτσι τέθηκε η υποθεση ότι στην πραγματικότητα η μείωση στο ιστικό οξυγόνο δεν συνέβη σε καμία στιγμή μετά από την έναρξη της υποξαιμικής ανάταξης.

Ένα ζήτημα που παραμένει να καθοριστεί είναι η αιτία για την παρατηρηθείσα μείωση της δραστηριότητας του μετατρεπτικού ένζυμου της αγγειοτενσίνης στα νορμοξαιμικώς ανατασσόμενα πειραματόζωα και για την διατήρησή αυτής στα υποξαιμικώς ανατασσόμενα πειραματόζωα, υπονοώντας την διατήρηση της λειτουργικής ακεραιότητας του τριχοειδικού ενδοθηλίου των πνευμόνων τους. Η πιθανότερη εξήγηση εμφανίζεται να είναι η "αντιφλεγμονώδης επίδραση" της υποξαιμικής ανάταξης για διάφορους λόγους:

(1) η χαμηλότερη δραστηριότητα της MPO δείχνει λιγότερη συσσώρευση ουδετερόφιλων που συνδυάζεται με χαμηλότερη έκφραση των μορίων προσκόλλησης στα πνευμονικά τριχοειδή και στα διάμεσα φλεγμονώδη κύτταρα, την λιγότερη προσκόλληση λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και την λιγότερη μετανάστευση (Sun et al 1999) και

(2) έχει αποδειχθεί ότι οι κυτταροκίνες ορού και τα ROS είναι σημαντικά χαμηλότερα στα υποξαιμικώς ανατασσόμενα πειραματόζωα (Douzinas et al 2008) παρατήρηση που επιβεβαιώνεται επίσης στην τρέχουσα μελέτη από τα χαμηλότερα επίπεδα MDA στα πνευμονικά ιστικά παρασκευάσματα,

(3) ο ορός των νορμοξαιμικώς ανατασσόμενων ζώων σε αντίθεση με τα υποξαιμικώς ανατασσόμενα πειραματόζωα ενεργοποιεί ανθρώπινα μονοκύτταρα για την παραγωγή κυτταροκινών με την μεσολάβηση της p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase) (Douzinas et al 2007) και

(4) η φλεγμονή και η συνολική ιστοπαθολογική βαθμονόμηση των πνευμόνων ήταν σημαντικά χαμηλότερα στα υποξαιμικώς ανατασσόμενα πειραματόζωα, κάτι που ενισχύει την προστατευτική επίδραση της σχετικά βαθμιαίας επανεισόδου του O₂, κατά τη διάρκεια της ανάταξης του αιμορραγικού shock.

2.4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η υπόθεση ήταν ότι ο περιορισμός της μερικής τάσης οξυγόνου κατά την επαναιμάτωση μειώνει το διαθέσιμο υπόστρωμα για παραγωγή ROS. Απεδείχθη η ευεργετική επίδραση της προοδευτικής επανοξυγόνωσης ισχαιμικών ιστών του πνεύμονος, κάνοντας υποξαιμική ανάταξη του αιμορραγικού shock. Η υποξαιμική ανάταξη του αιμορραγικού shock συγκριτικά με την νορμοξαιμική προέκλεσε μειωμένη οξεία πνευμονική βλάβη ως αυτή εκφράστηκε από την μειωμένη ιστοπαθολογική βαθμονόμηση, την μειωμένη συγκέντρωση μαλονδιαλδεϋδης και μυελοπεροξειδάσης στον πνευμονικό ιστό, καθώς και την μειωμένη έκφραση ICAM-1 και VCAM-1 σε φλεγμονώδη κύτταρα και αγγεία. Τέλος να τονισθεί ότι η νορμοξαιμική ανάταξη του αιμορραγικού shock συνδέεται με πνευμονική ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Φαίνεται λοιπόν ότι η οξεία πνευμονική βλάβη που ακολουθεί μπορεί να μειωθεί από την υποξαιμική ανάταξη

Συμπερασματικά έναντι του τυποποιημένου τρόπου ανάταξης που βασίζεται στην νορμοξαιμική ανάταξη με ολικό αίμα, η βαθμιαία επανεισαγωγή του οξυγόνου όπως γίνεται στην υποξαιμική ανάταξη δύναται να μειώσει την σχετική με το αιμορραγικό shock- παθολογία των πνευμόνων. Εκτενής έρευνα και εκπαίδευση απαιτείται προτού εφαρμοσθεί στην κλινική πράξη.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός : Η υποξαιμική επαναιμάτωση μειώνει την εγκεφαλική βλάβη στην σοβαρή εγκεφαλική ισχαιμία, την μυοκαρδιακή και εντερική βλάβη που εμφανίζεται στο μετισχαιμικό shock στο έντερο, και προσφέρει αιμοδυναμική σταθεροποίηση και μείωση της φλεγμονώδους απάντησης. Ερευνήσαμε τώρα την επίδραση τη υποξαιμική επαναιμάτωση στο πνευμονικό ενδοθήλιο κατά την ανάταξη αιμορραγικού shock.

Σχεδιασμός: προοπτική τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη μελέτη σε πειραματόζωα

Τόπος Διεξαγωγής: Πειραματικό εργαστήριο Πανεπιστημιακής Μονάδας Εντατικής Θεραπείας

Πειραματόζωα : Αρσενικοί λευκοί κόνικλοι της Νέας Ζηλανδίας βάρους 3-3,5 kg

Παρεμβάσεις: Το αιμορραγικό shock εφαρμόστηκε –έως ότου να επιτευχθεί η μέση αρτηριακή πίεση των 40 mmHg- με αφαίμαξη για 60 min, σε αναισθητοποιημένα, μηχανικά αεριζόμενα πειραματόζωα. Η ανάταξη έγινε με αυτόλογο αίμα και Ringer’s lactate υπό νορμοξαιμία (Normox-Res group, PaO₂=95-105 mmHg, n=9) ή υποξαιμία (Hyrox-Res group, PaO₂=35-40 mmHg, n=7). Οι μετρήσεις έγιναν στην αρχική τιμή αναφοράς κατάσταση και 120min μετά την ανάταξη.

Μετρήσεις και κύρια αποτελέσματα: Χρησιμοποιώντας τις τεχνικές αραιώσεως δείκτη μετρήσαμε -στην αρχική κατάσταση αναφοράς και μετά την ανάταξη- την ενζυμική δραστηριότητα του συνδεδεμένου με τα ενδοθηλιακά πνευμονικά τριχοειδή μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, που εκφράστηκε ως ποσοστό του μεταβολισμού (%M) και υδρόλυση (v) του υποστρώματος ³H-benzoyl-Phe-Ala-Pro. Οι Normox-Res κόνικλοι εμφάνισαν μειωμένο %M (p<0.05) και v (p<0.05) μετά την ανάταξη εν σχέση με την αρχική τιμή αναφοράς κατάσταση, ενώ καμμία διαφορά δεν εμφανίστηκε στην ομάδα των Hyrox-Res. Η μυελοπεροξειδάση και η μαλονδιαλδεύδη μετρήθηκαν στον ιστό των πνευμόνων και ήταν υψηλότερες στα Normox-Res εν σχέση με τα Hyrox-Res πειραματόζωα (p<0.01). Η πνευμονική βλάβη υπολογίστηκε μικροσκοπικά, ενώ η έκφραση των μορίων προσκόλλησης (ICAM-1) και των αγγειακών μορίων προσκόλλησης(VCAM-1) αξιολογήθηκε με ανοσοιστοχημεία σε τομές από τα ίδια block. Οι Hyrox-Res κόνικλοι συγκριτικά με τους Normox-Res εμφάνισαν μειωμένη οξεία πνευμονική βλάβη ως εκφράζεται από την μειωμένη ιστοπαθολογική βαθμονόμηση (p<0.01) και την μειωμένη συγκέντρωση μαλονδιαλδεύδης (p<0.01), καθώς και την μειωμένη έκφραση ICAM-1 και VCAM-1 σε φλεγμονώδη κύτταρα (p<0.01) και αγγεία (p<0.05).

Συμπεράσματα: Η νορμοξαιμική ανάταξη του αιμορραγικού shock συνδέεται με τον πνευμονική ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και οξεία πνευμονική βλάβη (ALI) που μπορεί να μειωθεί από την υποξαιμική ανάταξη.

Συντομογραφίες περίληψης: Οξεία πνευμονική βλάβη: acute lung injury (ALI), ενδοθηλιακά συνδεδεμένο μετατρεπτικό ένζυμο: pulmonary capillary endothelial angiotensin converting enzyme (PCEB-ACE), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and the vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1).

SUMMARY

Objective: Hypoxemic reperfusion attenuates brain injury secondary to severe cerebral ischemia, myocardial and intestinal injury occurring in intestinal post-ischemic shock, and offers hemodynamic stabilization and attenuation of inflammatory response when applied in the resuscitation from hemorrhagic shock. We now investigated the effect of hypoxemic resuscitation on pulmonary endothelium.

Design: Prospective, randomized, controlled animal study

Setting: Experimental laboratory of a university intensive care unit.

Subjects: Male New Zealand white rabbits weighing 3-3.5 kg.

Interventions: Hemorrhagic shock at mean arterial pressure of 40 mmHg was induced by exsanguinations in anesthetized, mechanically-ventilated animals for 60 min and thereafter rabbits were resuscitated by homologous blood and Ringer's lactate infusion under normoxemia (Normox-Res group, PaO₂=95-105 mmHg, n=9) or hypoxemia (Hypox-Res group, PaO₂=35-40 mmHg, n=7). Measurements were performed in steady-state and 2 hours aftershock resuscitation.

Measurements and Main Results: Using indicator-dilution techniques we measured at baseline and post-resuscitation pulmonary capillary endothelial angiotensin-converting enzyme activity expressed as a percentage of metabolism (%M) and hydrolysis (v) of the substrate ³H-benzoyl-Phe-Ala-Pro. Normox-Res rabbits exhibited decreased %M (p<0.05) and v (p<0.05) post resuscitation as compared with base line, while no differences occurred in the Hypox-Res group. Myeloperoxidase and malondialdehyde were measured in lung tissue and were higher in Normox-Res than Hypox-Res animals (p<0.01). Lung injury was estimated microscopically whereas the expression of the intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and the vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) were assessed by immunohistochemistry on sections coming from the same tissue block. Compared to Normox-Res, Hypox-Res animals exhibited lower lung injury histopathological score (p<0.01) and lung malondialdehyde concentration (p<0.01), and lower ICAM-1 and VCAM-1 expressions in both the inflammatory cells (p<0.01) and the blood vessels (p<0.05).

Conclusions: Normoxemic resuscitation of hemorrhagic shock is associated with pulmonary endothelial dysfunction and lung injury that may be attenuated by hypoxemic resuscitation.

Abstract Abbreviations: hypoxemic resuscitation group (Hypox-Res) normoxemic resuscitation group (Normox-Res) acute lung injury (ALI); pulmonary endothelium-bound angiotensin-converting enzyme (PCEB-ACE), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1).

Key words: haemorrhagic shock resuscitation, ischemia-reperfusion injury, sepsis, multiple organ failure, ALI, ARDS, pulmonary endothelium, inflammation

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

1. Abassi Z, Armaly Z, Heyman S.(2020) [Glycocalyx Degradation in Ischemia-Reperfusion Injury](#). *Am J Pathol* 190(4), 752-767. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2019.08.019>
2. Abdel-Rahman U, Aybek T, Moritz A, Kleine P, Matheis G. (2003) [Graded reoxygenation limits lipid peroxidation during surgical reperfusion](#). *Med Sci Monit* 9, 9, CR389-391.
3. Abdel-Rahman U, Risteski P, Tizi K, Kerscher S, Behjati S, Zwicker K, et al. (2009) [Hypoxic reoxygenation during initial reperfusion attenuates cardiac dysfunction and limits I/R injury after cardioplegic arrest in a porcine model](#). *J Thorac Cardiovasc Surg.*137(4):978–82.
4. Abe J, Baines C,P, Berk B,C, (2000) [Role of mitogen-activated protein kinases in ischemia and reperfusion injury: The good and the bad](#). *Circ. Res.* 86, 607–9 .
5. Adeva-Andany M, López-Ojén M, Funcasta-Calderón R, (2014). [Comprehensive Review on lactate metabolism in human health](#) *Mitochondrion* 17,76-100 doi.org/10.1016/j.mito.2014.05.007
6. Alam H, Koustova E, Rhee P(2005) [Combat Casualty Care Research: From Bench to the Battlefield](#) *World J. Surg.* 29, S7–S11.
7. Alam H, Stanton K, Koustova E, Burris D, Rich N, Rhee P (2004) [Effect of different strategies on neutrophil activation in a swine model of hemorrhagic shock](#). *Resuscitation* 60, 91-99.
8. Alphonsus C,S, Rodseth R,N, (2014) [The endothelial glycocalyx: A review of the vascular barrier](#). *Anaesthesia* 69 (7), 777-784 .
9. Angus DC, van der Poll T. (2013).[Severe Sepsis and Septic Shock](#). *N Engl J Med* 369,840-51.
10. The ARDS Definition Task Force. 2012 [Acute respiratory distress syndrome: the Berlin definition](#). *JAMA* 307(23), 2526-2533
11. Arrebola-Moreno AL, Laclaustra M, Kaski JC.(2012) [Noninvasive assessment of endothelial function in clinical practice](#). *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 65(1), 80-90. doi.org/10.1016/j.recesp.2011.09.012.
12. Asehnoune K, Moine P, Fitting C, Benhamou D (2005) [Modulation différentielle des effets de la stimulation des récepteurs Toll-like 2 et 4 par l'état de choc hémorragique](#). *Ann Françaises d'Anesth et Réanim* 24, 255–259.
13. Astapenko D, Benes J, Pouska J, Lehmann C, Islam S, Cerny V (2019) [Endothelial glycocalyx in acute care surgery – what anaesthesiologists need to know for clinical practice](#) *BMC Anesthesiology* 19,238, <https://doi.org/10.1186/s12871-019-0896-2>
14. Astapenko D, Benes J, Cerny V.(2020) [Clinical Relevance of the Endothelial Glycocalyx in Critically ill Patients](#). In *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2020*. p 245-256. J-C Vincent (Ed) Springer Brussels,
15. Ayala A, Muñoz M, Argüelles S,(2014) [Lipid Peroxidation:Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal](#). *Oxidative Medicine*

and Cellular Longevity , Article ID 360438, doi.org/10.1155/2014/360438.

16. Becker BF, Jacob M, Leipert S, et al (2015) [Degradation of the endothelial glycocalyx in clinical settings: Searching for the sheddases.](#) *Br J Clin Pharmacol* 80 (3), 389-402.
17. Bedirli A, Kerem M, Pasaoglu H, Akyurek N, Tezcaner T, et al (2007) [Beta-glucan attenuates inflammatory cytokine release and prevents acute lung injury in an experimental model of sepsis.](#) *Shock* 27, 397-401.
18. Beg A. (2002) [Endogenous ligands of Toll-like receptors: implications for regulating inflammatory and immune responses.](#) *TRENDS in Immunology* 23, 11, 509-13 .
19. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, Gattinoni L, et al. (2016) [Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries.](#) *JAMA*. 315, 788–800.
20. Bettinson HV, Quinlan GJ, Evans TW. (2004) [Redox imbalance in sepsis and the systemic inflammatory response syndrome.](#) *In: Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine* 2004, Ed. J-L. Vincent, p :27-37
21. Bhatia M, Moochhala S. (2004) [Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of ARDS](#) *J Pathol* 202, 145–156.
22. Bjerkvig C, Strandenes G, Eliassen H, (2016) [“Blood failure” time to view blood as an organ: how oxygen debt contributes to blood failure and its implications for remote damage control resuscitation](#) *Transfusion* 56, S182–S189.
23. Bogert J, Harvin J, Cotton B. (2016) [Damage Control Resuscitation.](#) *Journal of Intensive Care Medicine* 31 (3), 177-186.
24. Brettner F, von Dossow V, Chappell D (2017). [The endothelial glycocalyx and perioperative lung injury.](#) *Curr Opin Anesthesiol* 30 (1), 36–41. DOI:10.1097/ACO.0000000000000434
25. Bruttig S., O’Benar J., Wade C., Dubick M. (2005) [Benefit of slow infusion of hypertonic saline/dextran in swine with uncontrolled aortotomy hemorrhage.](#) *Shock* 24(1), 92–96.
26. Burns AR, Takei F, Doerschuk CM. (1994) [Quantitation of ICAM-1 expression in mouse lung during pneumonia.](#) *J Immunology* 153, 3189-3198.
27. Cairns C (2001) [Rude unhinging of the machinery of life: metabolic approaches to hemorrhagic shock.](#) *Curr Opin Crit Care* 7, 437–443.
28. Cannon J (2018) [Hemorrhagic Shock](#) *N Engl J Med* 378, 370-9.
29. Cantan B and Martvn-Loeches I (2020). [Microcirculation in Patients with Sepsis: From Physiology to Interventions.](#) In J-C Vincent(Ed) Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2020. Springer Brussels, p 245-256.
30. Catravas JD, White RE (1984): [Kinetics of pulmonary angiotensin-converting enzyme and 5-nucleotidase in vivo.](#) *J Appl Physiol* 57, 1173–1181.
31. Cavaillon J.-M, Adib-Conquy M, Fitting C, Adrie C, Payen D. (2003) [Cytokine Cascade in Sepsis](#) *Scand J Infect Dis*; 35: 535-544.

- 32.Chang R, Holcomb J. (2017) [Optimal Fluid Therapy for Traumatic Hemorrhagic Shock](#) *Crit Care Clin* 33; 15–36. doi.org/10.1016/j.ccc.2016.08.007
- 33.Chen GY, Nunez G. (2010) [Sterile inflammation: Sensing and reacting to damage.](#) *Nat. Rev. Immunol.* 10: 826–37.
- 34.Chen L, Zhao H, Alam A, Mi E, Eguchi S, Yao S, Ma D. (2019) [Postoperative remote lung injury and its impact on surgical outcome](#) *BMC Anesthesiology* 19:30 doi.org/10.1186/s12871-019-0698-6, 2019
- 35.Chen M, Yan X-T, Ye L, Tang J-J, Zhang Z-Z, He X-H (2020) [Dexmedetomidine ameliorates lung injury induced by Intestinal Ischemia/Reperfusion by upregulating cannabinoid receptor 2, followed by the activation of the phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Pathway.](#) *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* https://doi.org/10.1155/2020/6120194.
- 36.Chignard M, Balloy V (2000): [Neutrophil recruitment and increased permeability during acute lung injury induced by lipopolysaccharide.](#) *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 279, L1083–L1090.
- 37.Childs EW, Udobi KF, Wood JG, Hunter FA, Smalley DM, Cheung LY. (2002) [In vivo visualization of reactive oxidants and leukocyte-endothelial adherence following hemorrhagic shock.](#) *Shock* 18 (5),423-427.
- 38.Cho R,L, Yang C, Lee I,T, Lin C,C, Chi P,L, Hsiao L,D, et al (2016) [Lipopolysaccharide induces ICAM-1 expression via a c-Src/NADPH oxidase/ ROS-dependent NF-κB pathway in human pulmonary alveolar epithelial cells.](#) *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 310(7), L639-657 doi.org/10.1152/ajplung.00109.2014
- 39.Cooke W, Ryan K, Convertino V. (2004) [Lower body negative pressure as a model to study progression to acute hemorrhagic shock in humans.](#) *J Appl Physiol*;96, 1249–1261
- 40.Cowled P, Robert Fritridge R (2011) [Pathophysiology of Reperfusion Injury in Mechanisms of Vascular Disease](#) *A Reference Book for Vascular Specialists* Fritridge &Thompson Eds Barr Smith Press 2011 pp 331-351
- 41.Crompton M (1999) [The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death.](#) *Biochem J* 341, 233-49.
- 42.Cruz F, Rocco P.R.M, Pelosi P (2017) [Anti-Inflammatory Properties of Anesthetic Agents](#) In J-C Vincent (Ed) *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine* 2017. Springer Brussels, 2017, p 401-415.
- 43.Cuzzocrea S, Riley D, Caputi C, Salvemini D. (2001) [Antioxidant Therapy:A New Pharmacological Approach in Shock, Inflammation, and Ischemia/Reperfusion Injury.](#) *Pharmacol Rev* 53, 135–159 a
- 44.Danton GH, Dietrich WD (2003). [Inflammatory mechanisms after ischemia and stroke.](#) *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 62, 127–36.
- 45.Daxnerova Z, Marsala M, Marsala J (1995). [Graded postischemic reoxygenation attenuates ischemia-reperfusion-induced nuclear and nucleolar damage in lumbosacral dorsal root ganglia neurons. A light and electron microscopic study in rabbit.](#) *J Hirnforsch.* 36(3),379–91.
- 46.De Backer D., Creteur J., Dubois M. [Microvascular Alterations in Patients with Circulatory Failure.](#) In: Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine 2003, Ed.J-L.Vincent:535-43

47. Deb S, Sun L, Martin B, Talens E, Burris D, Kaufman C, Rich N, Rhee P (2000) Lactated Ringer's solution and hetastarch but not plasma resuscitation after rat hemorrhagic shock is associated with immediate lung apoptosis by the upregulation of the bax protein. *J Trauma* 49, 47–55.
48. DeLong W, and Born C.(2004) Cytokines in Patients with Polytrauma *Clinical Orthopaedics and Related Research* 422, 57–65.
49. Demetriades D, Chan L, Cornwell E, Belzberg H, Berne T, Asensio J, et al (1996) Paramedic vs private transportation of trauma patients. Effect on outcome *Arch Surg.* 131 (2), 133-8.
50. de Pablo R, Monserrat J, Reyes E, Diaz D, Rodriguez-Zapata M, de la Hera A, et al. (2013) Circulating sICAM-1 and sE-Selectin as biomarker of infection and prognosis in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Eur J Intern Med*, 24(2), 132-8.
doi: 10.1016/j.ejim.2012.10.009
51. de Perrot M, Liu M, Waddell TK, Keshavjee S (2003) Ischemia-Reperfusion induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 167,490-511.
52. Dewar D, Tarrant S, King KL, Balogh Z. (2013) Changes in the epidemiology and prediction of multiple-organ failure after injury. *J of Trauma and Acute Care Surgery* 74(3),774–779.
53. Dinarello C (2008) Proinflammatory Cytokines *Chest* 118, 503–508.
54. Doerschuk CM (2001) Mechanisms of leukocyte sequestration in inflamed lungs. *Microcirculation* 8, 71-88.
55. Doerschuk C,M, Allard M,F, Martin B,A, MacKenzie A, Autor A,P, Hogg J,C.(1987) Marginated pool of neutrophils in rabbit lungs. *J Appl Physiol* 63, 1806-1815.
56. Douzinas E,E, Andrianakis I, Pitaridis MT, Karpaliotis DJ, Kypriades EM, Betsou A, et al. (2001) a The effect of hypoxemic reperfusion on cerebral protection after a severe global ischemic brain insult. *Intensive Care Med.* 27(1), 269–75.
57. Douzinas E,E, Betrosian A, Giamarellos-Bourboulis E,J, Tasoulis MK, Prigouris P, et al (2011). Hypoxemic resuscitation from hemorrhagic shock prevents lung injury and attenuates oxidative response and IL-8 overexpression. *Free Radic Biol Med.* 50(2), 245–53.
58. Douzinas EE, Betrosian A, Livaditi O, Flevari K, Kanni T, Mouktaroudi M, et al(2009)a Hypoxemic resuscitation after hemorrhagic shock is accompanied by reduced serum levels of angiopoietin-2. *Cytokine.* 47(2), 82–4,.
59. Douzinas EE, Kollias S, Tiniakos D, Evangelou E, et al (2004). Hypoxemic reperfusion after 120 mins of intestinal ischemia attenuates the histopathologic and inflammatory response. *Crit Care Med.*32 (11), 2279–83.
60. Douzinas EE, Livaditi O, Andrianakis I, Prigouris P, Paneris P, Villiotou V, et al.(2008) The effect of hypoxemic resuscitation from hemorrhagic shock on blood pressure restoration and on oxidative and inflammatory responses. *Intensive Care Med.* 34(6), 1133–41.
61. Douzinas EE, Livaditi O, Tasoulis MK, Pelekanou A, Giamarellos-Bourboulis EJ. (2007) Stimulation of monocytes is a pathway involved in systemic inflammatory response following

haemorrhagic shock resuscitation: the effect of hypoxemic resuscitation. *Clin Exp Immunol.* 150 (3), 502–8.

62. Douzinas EE, Livaditi O, Tasoulis M-K, Prigouris P, Bakos D, Goutas N, et al. (2012) Nitrosative and oxidative stresses contribute to post-ischemic liver injury following severe hemorrhagic shock: the role of hypoxemic resuscitation. *PLoS One.* 7(3), e32968.

63. Douzinas EE, Livaditi O, Xiarchos AG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Villiotou V, Liappas IA, et al (2006). The effect of hypoxemic resuscitation of hemorrhagic shock on hemodynamic stabilization and inflammatory response: a pilot study in a rat experimental model. *J Trauma.* 61(4), 918–23.

64. Douzinas EE, Orfanos SE, Livaditi O, Augustatou K, Villiotou V, Kavantzias N, et al (2009) Hypoxemic resuscitation prevents pulmonary capillary endothelial dysfunction induced by normoxemic resuscitation from hemorrhagic shock. *Crit Care Med.* 37(3), 869–75

65. Douzinas EE, Patsouris E, Kypriades E, Makris D, Andrianakis I, Korkolopoulou P, et al. (2001) Hypoxaemic reperfusion ameliorates the histopathological changes in the pig brain after a severe global cerebral ischemic insult. *Intensive Care Med.* 27 (5), 905–10 .

66. Douzinas EE, Pitaridis MT, Patsouris E, Kollias S, Boursinos V, Karmaliotis DI, et al. (2003) Myocardial ischemia in intestinal postischemic shock: the effect of hypoxemic reperfusion. *Crit Care Med.* 31(8), 2183–9.

67. Dutton R (2001) Resuscitation from traumatic shock *Current Opinion in Anaesthesiology* 14, 217-220.

68. Dutton RP. (2002) Low-pressure resuscitation from hemorrhagic shock. *Int Anesthesiol Clin.* Summer; 40 (3), 19-30 a

69. Dutton R.P, Mackenzie C, Scalea T (2002). Hypotensive resuscitation during active hemorrhage: impact on in-hospital mortality. *J. Trauma.* 52(6), 1141-6 b.

70. Efron P, Moore F.A, Brakenridge S.C (2018) Persistent Inflammation, Immunosuppression and Catabolism after Severe Injury or Infection. In *J-C Vincent (Ed) Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2018.* Springer Brussels pp 25-35.

71. Egan E, Johnson K (2020) The Influence of Hemorrhagic Shock on the Disposition and Effects of Intravenous Anesthetics: A Narrative Review. *Anesth Analg* 130, 1320–30.

72. El Rashid Z, Garrison N, Kawabe T, Harris P. (2005) Direct Peritoneal Resuscitation : Effect of Time Delay in Therapy Initiation. *J Trauma* 58:499 –508, 2005.

73. El Rashid Z, Spain D, Harris P, Garrison R, (2002) Resuscitation regimens for hemorrhagic shock must contain blood. *Shock* 18(6), 567-573.

74. Eltzschig H, Eckle T, (2011) Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nat Med.* 17 (11), . doi:10.1038/nm.2507.

75. Engels G-E, van Oeveren W, (2015) Biomarkers of Lung Injury in Cardiothoracic Surgery Disease Markers , Article ID 472360, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/472360>.

76. Fan E, Fan J (2018) Regulation of alveolar macrophage death in acute lung inflammation *Respiratory Research* 19:50 <https://doi.org/10.1186/s12931-018-0756-5>

- 77.Fan J, Ye R, Mallik A (2001) [Transcriptional mechanics of acute lung injury.](#) *Am J Physiol* 281, L1037-1050.
- 78.Fercakova A, Marsala M, Marsala J (1994) [Influence of graded postischemic reoxygenation on reperfusion alterations in rabbit dorsal root ganglion neurons.](#) *J Hirnforsch* 35(2), 295–302.
- 79.Fink M,P (2002) [ROS as mediators of organ dysfunction caused by sepsis, acute respiratory distress syndrome or hemorrhagic shock: potential benefits of resuscitation with Ringer’s ethyl pyruvate solution.](#) *Curr Opin Clin Metab Care* 5(2), 167-174. a
- 80.Fink M,P, (2002) [Role of reactive oxygen and nitrogen species in acute respiratory distress syndrome.](#) *Curr Opin Crit Care* 8, 6-11. b
- 81.Fisher A,B, Dodia C, Tan Z,T, et al (1991) [Oxygen dependent lipid peroxidation during lung ischemia.](#) *J Clin Invest* 88, 674–679, 1991
- 82.Gattinoni L, Brazzi L, Pelosi P, (1996) [Does Cardiovascular optimization reduces mortality? In: Update in Intensive Care and Emergency Medicine 1996,](#) Eds J-L. Vincent: 308-18.
- 83.Gearing A, J, Hemingway I, Pigott R, Hughes J, Rees A,J, Cashman S,J. (1992) [Soluble forms of vascular adhesion molecules, E-selectin, ICAM-1, and VCAM-1: pathological significance.](#) *Ann NY Acad Sci* 667:324–31.
- 84.Giannoudis P,V (2003) [Current concepts of the inflammatory response after major trauma: an update](#) *Injury* 34, 397–404.
- 85.Goris R,J, A, (2000) [Pathophysiology of Shock in Trauma](#) *Eur J Surg* 166, 100–111
- 86.Granger D,N, Kvietys P,R.(2015) [Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept.](#) *Redox Biol.* 6, 524–51.
- 87.Gulati A (2016) [Vascular endothelium and hypovolemic shock.](#) *Curr Vasc Pharmacol.* 14(2), 187-95.
- 88.Gutierrez G, Reines D, Wulf-Gutierrez M.(2004)[Clinical review:Hemorrhagic shock.](#) *Crit Care* 8, 373-81.
- 89.Halestrap AP, Kerr PM, Javadov S et al. (1998) [Elucidating the molecular mechanism of the permeability transition pore and its role in reperfusion injury of the heart.](#) *Biochim Biophys Acta*, 1366, 79-94.
- 90.Halestrap AP, Clarke SJ, Khaliulin I. (2007) [The role of mitochondria in protection of the heart by preconditioning.](#) *Biochim Biophys Acta* 1767, 1007-31.
- 91.Hall J,E, (2011) [Circulatory shock.](#) In: *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology.* 12th ed. PA: Saunders Elsevier Philadelphia pp 273-282
- 92.Halladin N,L, (2015) [Oxidative and inflammatory biomarkers of ischemia and reperfusion injuries.](#) *Dan. Med. J.* 62(4), B5054, 22 pages.
- 93.Halladin N,L, Zahle F,V, Rosenberg J, Gogenur I (2014). [Interventions to reduce tourniquet-related ischaemic damage in orthopaedic surgery: a qualitative systematic review of randomised trials.](#) *Anaesthesia* 69, 1033-50.

94. Hambly P, R, Dutton R, P (1996) [Excess mortality associated with the use of a rapid infusion system at a level I trauma center](#). *Resuscitation*. 31(2), 127-33.
95. Harari OA, Liao JK. (2010) [NF- \$\kappa\$ B and innate immunity in ischemic stroke](#). *Ann. NY Acad. Sci.* 1207, 32–40.
96. Harjunpää H, Lloret Asens M, Guenther C, Fagerholm S (2019) [Cell Adhesion Molecules and Their Roles and Regulation in the Immune and Tumor Microenvironment](#). *Front. Immunol*, doi.org/10.3389/fimmu.2019.01078
97. Haywood-Watson RJ, Holcomb JB, et al (2011): [Modulation of syndecan-1 shedding after hemorrhagic shock and resuscitation](#). *PLoS One* 6 (8), e23530.
98. Hierholzer C, Kalff J, Omert L, Tsukada K, Loeffert JE, Watkins S, et al (1998) [Interleukin-6 production in hemorrhagic shock is accompanied by neutrophil recruitment and lung injury](#). *Am J Physiol* 275, L611–L621.
99. Hubbard W, J, Bland K, I, Chaudry I, H (2004) [The role of the mitochondrion in trauma and shock](#). *Shock* 22(5), 395-402.
100. Hutchings S, Naumann D, Hopkins P, Mellis C, Riozzi P, Sartini S. (2018) [Microcirculatory impairment is associated with multiple organ dysfunction following traumatic hemorrhagic shock: The MICROSHOCK Study](#) *Crit Care Med* 46, e889–e896.
101. Idris A H, Roberts J, Caruso L, Showstark M, Layon AJ, Becker LB, et al (2005). [Oxidant injury occurs rapidly after cardiac arrest, cardiopulmonary resuscitation, and reperfusion](#). *Crit Care Med* 33(9), 2043-8.
102. Incalza MA, D'Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. (2018) [Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases](#) *Vascul Pharmacol*. Jan 100, 1-19. doi: 10.1016/j.vph.2017.05.005
103. Innerhofer P, Fries D, Mittermayr M, Innerhofer N, von Langen D, Hell T, et al. (2017) [Reversal of trauma-induced coagulopathy using first-line coagulation factor concentrates or fresh frozen plasma \(RETIC\): a single-centre, parallel-group, open-label, randomised trial](#). *Lancet Haematol*. 4(6), e258–71.
104. Ishikawa N, Oda M, Kawaguchi M, Tsunozuka Y, Watanabe G (2003). [The effects of a specific neutrophil elastase inhibitor \(ONO-5046\) in pulmonary ischemia-reperfusion injury](#). *Transpl Int* 16, 341-6.
105. Izumi M, McDonald M, Sharpe M, Chatterjee P, Thiernemann C (2002). [Superoxide dismutase mimetics with catalase activity reduce the organ injury in hemorrhagic shock](#). *Shock* 18, 230-235.
106. Jairam V, Uchida K, Narayanaswami V (2012) [Pathophysiology of Lipoprotein Oxidation](#). in *Lipoproteins – Role in Health and Diseases* Open Access Books doi.org/10.5772/50622.
107. Jarrar D, Chaudry IH, Wang P (1999) [Organ dysfunction following hemorrhage and sepsis: mechanisms and therapeutic approaches](#). *Int J Mol Med* 4(6), 575-583.
108. Jassem W, Fuggle Sv, Rela M, Koo DD, Heaton ND. (2002) [The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury](#). *Transplantation*. Feb 27, 73(4), 493-9.

- 109.Kagan VE, Tyurin VA, Jiang J et al. (2005) [Cytochrome c acts as a cardiolipin oxygenase required for release of proapoptotic factors.](#) *Nat Chem Biol* 1:223-32.
- 110.Kalogeris T, Baines C, Krenz M, Korthuis R, (2017) [Ischemia/Reperfusion.](#) *Compr Physiol* 7:113-170, 2017
- 111.Karasu E, Nilsson B, Köhl J, Lambris JD, Huber-Lang M (2019) [Targeting Complement Pathways in Polytrauma- and Sepsis-Induced Multiple-Organ Dysfunction.](#) *Front Immunol.* Mar 21;10:543 doi:10.3389/fimmu.2019.00543.
- 112.Karimova A, Pinsky D.(2001) [The endothelial response to oxygen deprivation: biology and clinical implications.](#) *Intensive Care Med* 27, 19-31.
- 113.Keller M, Aihara R, LaMorte W, Hirsch E. (2003) [Organ-Specific Changes in High-Energy Phosphates after Hemorrhagic Shock and Resuscitation in the Rat.](#) *J Am Coll Surg* 196, 685–690.
- 114.Keel M., Trentz O. (2005) [Pathophysiology of polytrauma](#) *Injury* 36, 691-709.
- 115.Kern J, Shoemaker W (2002) [Meta-analysis of hemodynamic optimization in high-risk patients](#) *Crit Care Med* 30:1686–1692, 2002.
- 116.Kentner R, Safar P, Behringer W, Wu X, Kagan V,E, Tyurina Y,Y, et al (2002) [Early antioxidant therapy with tempol during hemorrhagic shock increases survival in rats.](#)*J Trauma* 53, 968–977.
- 117.Kiang J (2004) [Inducible heat shock protein 70 kD and inducible nitric oxide synthase in hemorrhage/resuscitation-induced injury](#) *Cell Research* 14(6), 450-459.
- 118.Kiang J, Lu X, Tabaku L, Bentley T, Atkins J, Tsokos G (2005). [Resuscitation with lactated Ringer solution limits the expression of molecular events associated with lung injury after hemorrhage.](#) *J Appl Physiol* 98, 550–556.
- 119.Kim J,S, He L, Lemasters J,J. (2003) [Mitochondrial permeability transition: a common pathway to necrosis and apoptosis.](#) *Biochem Biophys Res Commun*, 304, 463-70.
- 120.Koo D,D, Welsh K,I, Roake J,A, Morris P,J, Fuggle S,V (1998) [Ischemia/reperfusion injury in human kidney transplantation an immunohistochemical analysis of changes after reperfusion.](#) *Am J Pathol* 153, 557–566.
- 121.Korthuis RJ, Dayton C, Yamagushi T.(2003) [Early and late preconditioning prevent I/R injury: Signalling Pathways Mediating the Adaptive Metamorphosis to a protective phenotype in preconditioned tissues.](#) In Schmidt-Schonbein G.W., Neil Granger D. (Eds) *Molecular Basis of Microvasculatory Disorders.* Springer-Verlag Paris pp:343-363
- 122.Kosieradzki, M., Rowiński W. (2008) [Ischemia/reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and prevention.](#) *Transplant. Proc.* 40, 3279–3288.
- 123.Koustova E, Stanton K., Gushchin V. Alam H,B, Stegalkina S, Rhee P,M. (2002) [Effects of Lactated Ringer’s Solutions on Human Leukocytes.](#) *J Trauma.* 52:872–878.
- 124.Kramer G,C (2003) [Hypertonic resuscitation: physiologic mechanisms and recommendations for trauma care.](#) *J Trauma* 54, 589-599.
- 125.Laubach V, Sharma A (2016) [Mechanisms of Lung Ischemia-Reperfusion Injury.](#)

Curr Opin Organ Transplant 21 (3), 246–252.

126. Levy M, Dellinger R, Townsend S, Linde-Zwirble W, Marshall J, Bion J, et al. (2010) The surviving sepsis campaign: Results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis. *Int Care Med.* 36(2), 222–31.

127. Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S (2007) Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nature Rev Immunol* 7(9), 678–689.

128. Liang S, Wang Y, Liu Y (2019) Dexmedetomidine alleviates lung ischemia-reperfusion injury in rats by activating PI3K/Akt pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 23, 370–377.

129. Liaudet L, Soriano G, Szabo E (2001) Poly (ADP-Ribose) Synthetase as a Novel Therapeutic target for Hemorrhagic shock. In Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine 2001, Ed. J-L. Vincent, Springer-Verlag p78–90.

130. Limani P, Linecker M, Oberkofler CE et al. (2016) Remote ischemic preconditioning: A novel strategy in rescuing older livers from ischemia-reperfusion injury in a rodent model. *Ann. Surg.* 264, 797–803.

131. Linkermann, A, Hackl, M, Kunzendorf U, Walczak H, Krautwald, S, Jevnikar, A, M. (2013) Necroptosis in immunity and ischemia-reperfusion injury. *Am. J. Transplant.* 13, 2797–2804.

132. Lord J, Midwinter M, Chen Y-F, Belli A, Brohi K, Kovacs E, et al (2014.) The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment. *Lancet* 384, 1455–65.

133. Lomas-Niera J-L, Perl M., Chun-Shiang Chung, Ayala A (2005) Shock and hemorrhage: an overview of animal models. *Shock* 24, 1:33–39 .

134. Lum H, Roebuck K. (2001) Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. *Am J Physiol Cell Physiol* 280, 719–741.

135. Luo X, Chen G, You G, Wang B, Lu M, Zhao J, et al (2016) Gradually increased oxygen administration promoted survival after hemorrhagic shock. *Exp Biol Med (Maywood)* 241(14): 1603–1610.

136. Luo X, Yin Y, You G, Chen G, Wang Y, Zhao J, et al (2015). Gradually Increased Oxygen Administration Improved Oxygenation and Mitigated Oxidative Stress after Resuscitation from Severe Hemorrhagic Shock. *Anesthesiology* 123(5), 1122–32.

137. Ma S, Wang Y, Chen Y, Cao F. (2015) The role of the autophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biochim. Biophys. Acta* 1852, 271–6.

138. Majde J (2003) Animal Models for Hemorrhage and Resuscitation Research. *J Trauma.* 54, S100 –S105.

139. Maniatis N, A, Kotanidou A, Catrvas J, D, Orfanos S, E (2008). Endothelial pathomechanisms in acute lung injury. *Vascul Pharmacol.* Oct-Dec 49(4-6), 119–33.

140. Marsala M, Danielisova V, Chavko M, Hornakova A, Marsala J (1989) Improvement of energy state and basic modifications of neuropathological damage in rabbits as a result of graded postischemic spinal cord reoxygenation. *Exp Neurol.* 105(1), 93–103.

141. Martinez-Mier G, Toledo-Pereyra L, Ward P (2001). [Adhesion Molecules and Hemorrhagic Shock](#). *J Trauma*. 51, 408–415.
142. Marzi I. (1997) [Hemorrhagic shock: Update in pathophysiology and therapy](#). *Acta Anaesth Scand* suppl 11, 42-44.
143. Matthay MA, Geiser T, Matalon S, Ischiropoulos H (1999) [Oxidant-mediated lung injury in the acute respiratory distress syndrome](#). *Crit Care Med* 27 (9), 2028-2030.
144. Matthay M, Zimmerman G, Esmon C, **Bhattacharya J, Coller B, Doerschuk C, Floros I**, et al (2003) [Future Research Directions in Acute Lung Injury](#). Summary of a national heart, lung and blood institute working group *Am J Respir Crit Care Med* 167, 1027–1035.
145. Matute-Bello G, Frevert C, Martin T (2008). [Animal models of acute lung injury](#). *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 295, L379–L399.
146. McIntyre L, Moher D, Fergusson D, Sullivan K, Mei S, Lalu M et al (2016) [Efficacy of mesenchymal stromal cell therapy for acute lung injury in preclinical animal models: a systematic review](#). *PLOS ONE* DOI:10.1371/journal.pone.0147170 January 28.
147. McLaughlin RM and Fish RE (1994) [Clinical biochemistry and Hematology \(Ch. 7\)](#) In Manning PJ, Ringler DH, Newcomer CE (eds) *The biology of the laboratory rabbit*, 2nd edition. New York, USA. Academic Press 1994, pp 111-127.
148. Menk M, Estenssoro E, Sahetya S, Serpa Neto A, Sinha P, Slutsky A, et al (2020) [Current and evolving standards of care for patients with ARDS](#). *Intens Care Med* 46(12), 2157-2167.
149. Milford E.M. & Reade M.C. (2019) [Resuscitation Fluid Choices to Preserve the Endothelial Glycocalyx](#). In J-C Vincent(Ed) *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2019*. Springer Brussels, pp 259- 276.
150. Mizobata Y (2017) [Damage control resuscitation: a practical approach for severely hemorrhagic patients and its effects on trauma surgery](#). *Journal of Intensive Care* 5,4, DOI 10.1186/s40560-016-0197-52017
151. Montomoli J, Donati A, Ince C. (2019) [Should Albumin be the Colloid of Choice for Fluid Resuscitation in Hypovolemic Patients?](#) In J-C Vincent(Ed) *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2019*. Springer Brussels, p 277- 292
152. Motaharinia J, Etezadi F, Moghaddas A & Mojtahedzadeh M (2015) [Immunomodulatory effect of hypertonic saline in hemorrhagic shock](#) DARU Journal of Pharmaceutical Sciences 23:47 DOI 10.1186/s40199-015-0130-9
153. Murao Y, Hata M, Ohnishi K, Okuchi K, Nakajima Y, Hiasa Y, et al. (2003) [Hypertonic saline resuscitation reduces apoptosis and tissue damage of the small intestine in a mouse model of hemorrhagic shock](#). *Shock* 20(1), 23-28.
154. Murphy D, Steenbergen C (2008). [Mechanisms Underlying Acute Protection from Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury](#). *Physiol Rev* 88, 581- 609.
155. Naidu B,V, Farivar A,S, Woolley S,M, Byrne K, Mulligan M,S (2003) [Chemokine response of pulmonary artery endothelial cells to hypoxia and reoxygenation](#). *J Surg Res* 114, 163-171 a

- 156.Naito H, Nojima T, Fujisaki N, Tsukahara K, Yamamoto H, Yamada T (2020) [Therapeutic strategies for ischemia reperfusion injury in emergency medicine. *Acute Medicine & Surgery* 7, e501 doi:10.1002/ams2.501](#)
- 157.Nakamura T, Abu-Dahab R, Menger M, Schäfer U, Vollmar B, Wada H et al(2005) [Depletion of alveolar macrophages by clodronate-liposomes aggravate I/R injury of the lung. *J Heart Lung Transplant* 24, 38-45.](#)
- 158.Naumann D, Beaven A, Dretzke J, Hutchings S, Midwinter M (2016) [Searching for the optimal fluid to restore microcirculatory flowdynamics after haemorrhagic shock: A systematic review of preclinical studies. *SHOCK*, 46: 6:609–622, 2016](#)
- 159.Orfanos S,E, Armaganidis A, Glynos C, Psevdi E, Kaltsas P, Sarafidou P, Catravas J,D et al (2000) [Pulmonary capillary endothelium-bound angiotensin-converting enzyme activity in acute lung injury. *Circulation* 102, 2011-2018.](#)
- 160.Orfanos SE, Chen X,L, Ryan J,W, et al (1994) [Assay of pulmonary microvascular endothelial angiotensin-converting enzyme in vivo: Comparison of three probes. *Tox Appl Pharmacol* 124, 99–111](#)
- 161.Orfanos SE, Kotanidou K, Roussos C (2002): [Pulmonary endothelial angiotensin converting enzyme in lung injury. In: 2002 Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine. Vincent JL \(Ed\). Berlin, Heidelberg, New York, Springer, 2002, pp 100–110](#)
- 162.Orfanos S E, Langleben D, Khoury J. Schlesinger R,D, Dragatakis L, Roussos C, Ryan J,W, Catravas J,D.(1999) [Pulmonary Capillary Endothelium-Bound Angiotensin-Converting Enzyme Activity in Acute Lung Injury. *Circulation* 99, 1593-99, 1999](#)
- 163.Orfanos SE, Mavrommati I, Korovesi I, Roussos C. (2004) [Pulmonary endothelium in acute lung injury: from basic science to the critically ill. *Intensive Care Med* 30,2,1702-15.](#)
- 164.Ovechkin A, Lominadze D, Sedoris K, Robinson T, Tyagi S, Roberts A. (2007) [Lung ischemia–reperfusion injury: implications of oxidative stress and platelet–arteriolar wall interactions. *Arch Physiol Biochem.* 113\(1\), 1–12.](#)
- 165.Pak O, Sydykov A, Kosanovic D, Schermuly R, Dietrich A, Schröder K, et al (2017) [Lung Ischaemia–Reperfusion Injury: The Role of Reactive Oxygen Species *Adv Exp Med Biol.* 967, 195-225. doi: 10.1007/978-3-319-63245-2_12.](#)
- 166.Parks D,A, Granger D,N (1986) [Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol* 250, G749-53.](#)
- 167.Pascual J, Ferri L, Seely A, Campisi G, Chaudhury P, Giannias B, et al (2002) [Hypertonic Saline Resuscitation of Hemorrhagic Shock Diminishes Neutrophil Rolling and Adherence to Endothelium and Reduces In Vivo Vascular Leakage. *Ann Surgery* 263 \(5\), 634–642.](#)
- 168.Perry M,A, Wadhwa S,S (1988) [Gradual reintroduction of oxygen reduces reperfusion injury in cat stomach. *Am J Physiol.* 254 \(3 Pt 1\),G366–72.](#)
- 169.Powers K,A, Kapus A, Khadaroo R,G, Papia G, Rotstein O,D.(2002) [25% Albumin modulates adhesive interactions between neutrophils and the endothelium following shock/resuscitation. *Surgery* Aug; 132\(2\), 391-8.](#)
- 170.Powers K,A, Kapus A, Khadaroo RG, He R, Marshall J,C, Lindsay T, Rotstein O,D

(2003) a [25% albumin prevents lung injury following shock/resuscitation](#). *Crit Care Med* 31(9), 2355-2363.

171.Powers K, Woo J, Khadaroo R, Papia G, Kapus A, Rotstein O. (2003) b [Hypertonic resuscitation of hemorrhagic shock upregulates the anti-inflammatory response by alveolar macrophages](#). *Surgery*; 134:312-18,

172.Powers K., Zurawska J, Szaszi K., Khadaroo RG, Kapus A, Rotstein O,D.(2005) [Hypertonic resuscitation of hemorrhagic shock prevents alveolar MF activation by preventing systemic oxidative stress due to gut ischemia/reperfusion](#). *Surgery*; 137, 66-74.

173.Quinlan G, Mumby S, Martin G, Bernard GR, Gutteridge J,M, Evans T,W. (2004) [Albumin influences total plasma antioxidant capacity favorably in patients with acute lung injury](#). *Crit Care Med* 32, 755–759.

174.Raha S, Robinson BH (2000) [Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing](#). *Trends Biochem Sci.* 25 (10), 502-8.

175.Ramesh G. H, Uma J.C, Farhath S (2019) [Fluid resuscitation in trauma: what are the best strategies and fluids ?](#) *International. Journal of Emergency Medicine* 12,38 doi.org/10.1186/s12245-019-0253-8

176.Revel M, Greaves I, Porter K.(2003) [Endpoints for fluid resuscitation in hemorrhagic shock](#). *J Trauma* 54, 563-67.

177.Rixen D, Siegel J (2005) [Bench-to-bedside review: Oxygen debt and its metabolic correlates as quantifiers of the severity of hemorrhagic and posttraumatic shock](#). *Crit Care*.9(5),441-53

178.Rowlands D,J, Islam M,N, Das S,R, Huertas A, Quadri S,K, Horiuchi K, et al. (2011) [Activation of TNFR1 ectodomain shedding by mitochondrial Ca²⁺ determines the severity of inflammation in mouse lung microvessels](#). *J Clin Invest.* 121(5), 1986-1999. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI43839>.

179.Salatti-Ferrari R, Feijó-Andrade C (2015). [Oxidative Stress and Lung Ischemia-Reperfusion Injury](#) *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* dx.doi.org/10.1155/2015/590987

180.Sanada S, Komuro I, Kitakaze M (2011) [Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures](#). *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 301, H1723- H1741.

181.Savage S, Fitzpatrick C, Kashyap V, Clouse W, Kerby J (2005) [Endothelial Dysfunction After Lactated Ringer's Solution Resuscitation for Hemorrhagic Shock](#) *J Trauma* 59, 284–90.

182.Savoye G, Fabienne Tamion F, Richard V, Varin R, Thuillez C (2005). [Hemorrhagic shock resuscitation affects early and selective mesenteric artery endothelial function through a free radical-dependent mechanism](#). *Shock* 23 (5), 411–416.

183.Sauia A, Moore F, Moore E (2017) [Postinjury Inflammation And Organ Dysfunction](#) *Crit Care Clin.* 33(1), 167–191. doi:10.1016/j.ccc.2016.08.006.

184.Schott U, Solomon C, Fries D, Bentzer P (2016): [The endothelial glycocalyx and its disruption, protection and regeneration: A narrative review](#). *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 24:48. doi 10.1186/s13049-016-0239-y

185. Seal J. and Gewertz B. (2005) [Vascular Dysfunction in Ischemia-Reperfusion Injury](#) *Ann Vasc Surg* 19, 572-584.
186. Sessler CN, Windsor AC, Schwartz M, Watson L, Fisher BJ, Sugerman HJ, et al. (1995) [Circulating ICAM-1 is increased in septic shock](#). *Am J Respir Crit Care Med* 151(5),1420–7.
187. Shoemaker W. Appel P. Kram H., Waxman K., Lee T-S. (1988) [Prospective trial of supranormal values of survivors as therapeutic goals in high-risk surgical patients](#). *Chest* 94(6), 1176-1186.
188. Shukla A, Hashigushi N, Chen Yu, Coimbra R, Hoyt D, Junger W. 2004. [Osmotic regulation of cell function and possible clinical applications](#). *Shock* 21(5), 391-400
189. Siegemund M, Hollinger A, Gebhard E, Scheuzger J, Bolliger D (2019) [The value of volume substitution in patients with septic and haemorrhagic shock with respect to the microcirculation](#) *Swiss Med Wkly*. 149:w 20007, doi:10.4414/smw.2019.20007
190. Simpkins C, Little D, Brenner A, Hill J (2004) [Heterogeneity in the Effect of Albumin and Other Resuscitation Fluids on Intracellular Oxygen Free Radical Production](#). *J Trauma* 56, 548 –59.
191. Sinclair S, Kregenow D, Lamm W, Starr I, Chi E, Hlastalae M.(2002) [Hypercapnic Acidosis Is Protective in an In Vivo Model of Ventilator-induced Lung Injury](#). *Am J Respir Crit Care Med* 166, 403–408.
192. Singer M, Deutschman C, Warren Seymour C (2016) [The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock \(Sepsis-3\)](#) *JAMA* 23, 315(8), 801–810.
193. Smail N (2002) [Insuffisance circulatoire aiguë: physiopathologie de la souffrance tissulaire et implications thérapeutiques](#). *Conférences d'actualisation 2002*, pp.731-745
194. Sousa A, Raposo F, Fonseca S, Valente L, Duarte F et al (2015) [Measurement of Cytokines and Adhesion Molecules in the First 72 Hours after Severe Trauma: Association with Severity and Outcome](#). *Disease Markers* Article ID 747036
dx.doi.org/10.1155/2015/747036
195. Spadaro S, Park M, Turrini C, Tunstall T, Thwaites R, Mauri T, et al.(2019) [Biomarkers for Acute Respiratory Distress syndrome and prospects for personalised medicine](#). *Journal of Inflammation* 16:1, doi.org/10.1186/s12950-018-0202-y
196. Spoelstra-deMan A, Elbers P, Oudemans-van Straaten H. (2018) [Making Sense of Early High-dose Intravenous Vitamin C in Ischemia/Reperfusion Injury](#). IN *J-C Vincent (Ed) Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2018*. Springer Brussels,p124-35
197. Standl T, Annecke T, Cascorbi I, (2018) [The Nomenclature, Definition and Distinction of Types of Shock](#) *Dtsch Arztebl Int* 115, 757–68.
198. Steinau H-U (1988). [Major Limb Replantation and Postischemia Syndrome: Investigation of Acute Ischemia-induced Myopathy and Reperfusion Injury](#). Springer Verlag Berlin Heidelberg, pp14-39.
199. Stern S.A. (2001) [Low volume fluid resuscitation for presumed hemorrhagic shock: helpful or harmful?](#) *Current Opinion in Critical Care* 7, 422-30.

- 200.Sun LL, Ruff P, Austin B, Deb S, Martin B, Burris D, Rhee P. (1999) Early upregulation of intracellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 expression in rats with hemorrhagic shock and resuscitation. *Shock* 11,416–422.
- 201.Tamion F, Clabault K, Bonmarchand G. (2003) Ischemie-reperfusion mesenterique lors des etats de choc: principaux aspects physiopathologiques. Splanchnic ischemia-reperfusion in shock: pathophysiology. *Reanimation* 12, 441-448.
- 202.Ten V,S, Pinsky D,J (2002) Endothelial response to hypoxia : physiologic adaptation and pathologic dysfunction. *Curr Opin Crit Care* 8, 242-250.
- 203.Teng Y,H, Aquino R,S, Park P,W (2012) Molecular functions of syndecan-1 in disease. *Matrix Biol* 31(1), 3-16.
- 204.Teng Y, Feng C, Liu Y, Jin H, (2018). Anti-inflammatory effect of tranexamic acid against trauma-hemorrhagic shock-induced acute lung injury in rats. *Exp. Anim.* 67(3), 313–320.
- 205.Thais-Fantozzi E, Rodrigues-Garbin S, Yamamoto Ricardo-da-Silva F, Oliveira-Filho R, et al (2018) Acute lung injury induced by intestinal ischemia and reperfusion is altered in obese female mice. *Pulm Pharmacol Ther.*49:54-59 doi:10.1016/j.pupt.2018.01.005.
- 206.Thompson K, Krupinsky L, Stark R. (2019) Late immune consequences of combat trauma: a review of trauma-related immune dysfunction and potential therapies. *Military Medical Research* 6,11 . doi.org/10.1186/s40779-019-0202-0
- 207.Tompkins RG. (2015) Genomics of injury: the Glue Grant experience. *J Trauma Acute Care Surg* 78, 671-86.
- 208.Tores-Fihlo I (2018) Hemorrhagic Shock and the Microvasculature *Compr Physiol* 8,61-101.
- 209.Traber D,L. (2004) An Integration of Organ System Physiology. In Yearbook of Intensive Care &Emergency Medicine 2004, Ed. J-L. Vincent, Brussels.p 584-593.
- 210.Tsantes A, Bonovas S, Travlou A, Sitaras N (2006). Redox imbalance, macrocytosis, and RBC homeostasis. *Antioxid Redox Signal*, 8(7-8), 1205-16.
- 211.Tsukamoto T, Chanthaphavong S, Pape H-C (2010) Current theories on the pathophysiology of multiple organ failure after trauma. *Injury, Int. J. Care Injured* 41, 21–26.
- 212.Turan I, Ozacmaka H, Ozacmaka V, et al (2018) The effects of S-nitrosoglutathione on intestinal ischemia reperfusion injury and acute lung injury in rats: Roles of oxidative stress and NF-κB. *Tissue and Cell* 52, 35–41.
- 213.Van der Kaaj N.P, Boger AJ, Lachmann B. (2005) Ischemia-Reperfusion Injury Lung: Role of Surfactant. In: Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine 2005, Ed. J-L. Vincent, p 49-62.
- 214.Vander Heide R,S, Steenbergen C. (2013) Cardioprotection and myocardial reperfusion: pitfalls to clinical application. *Circ Res* 113, 464-77.
- 215.Van Der Linden P(1998) Anemic Hypoxia In Update in Intensive Care and Emergency Medicine: Tissue Oxygenation in Acute Medicine Springer, Brussels Sibbald W.J., Messmer K., Fink M.P(Eds). p116-27.

216. van Leeuwen A, Naumann D, Dekker N, Hordijk P, Hutchings S, Boera C (2020) [In vitro endothelial hyperpermeability occurs early following traumatic hemorrhagic shock.](#) *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 75,121–133.
217. Van Way III C, Dhar A, Morrison D, Longorio M, Maxfield D (2003) [Cellular energetics in hemorrhagic shock: restoring adenosine triphosphate to the cells.](#) *J Trauma* 54,169-176
218. Vassiliou A, Kotanidou A, Dimopoulou I, Orfanos S (2020) [Endothelial Damage in Acute Respiratory Distress Syndrome.](#) *Int. J. Mol. Sci.* 21, 8793. doi:10.3390/ijms21228793
219. Velmahos G, Demetriades D, Shoemaker W (2000) [Endpoints of Resuscitation of Critically Injured Patients: Normal or Supranormal?](#) *Ann Surg* 232(3), 409–18.
220. Vercesi AE, Kowaltowski AJ, Grijalba MT et al (1997) [The role of reactive oxygen species in mitochondrial permeability transition.](#) *Biosci Rep* 17, 43-52.
221. Villiotou V, Deliconstantinos, G (1995) [Nitric oxide, peroxynitrite and nitroso-compounds formation by ultraviolet A\(UVA\) irradiated human squamous cell carcinoma.](#) *Anticancer Research* 15, 931-42.
222. Vincent J-L, De Backer D (2013) [Circulatory Shock](#) *N Engl J Med* 369, 1726-34.
223. Wang H, Chen M-B, Zheng X-W, Zheng Q (2019), [Effectiveness and safety of hypotensive resuscitation in traumatic hemorrhagic shock. A protocol for meta-analysis.](#) *Medicine* 98:48
224. Ware L, & Matthay M, (2000) [The acute respiratory distress syndrome.](#) *N Engl J Med* 342, 1334-49.
225. Welbourn C, Goldman G, Paterson I et al (1997) [Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil](#) *Br. J. Surg.* 78 , 651 -655.
226. Wettstein R, Tsai A,G, Erni D, Lukyanov A,N, Torchilin V,P, Intaglietta M (2004) [Improving microcirculation is more effective than substitution of red blood cells to correct metabolic disorder in experimental hemorrhagic shock.](#) *Shock*;21(3):235-240, 2004.
227. Weyker P , Webb C, Kiamanesh D, Flynn B (2012) [Lung Ischemia Reperfusion Injury : A Bench-to-Bedside Review.](#) *Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 17(1) 28–43.
228. Weymouth W, Long B, Koyfman A, Winckler C (2019) [Whole blood in trauma: A review for emergency clinicians](#) *The Journal of Emergency Medicine* 1–8, doi.org/10.1016/j.jemermed.2019.01.024
229. Wilkinson J, N, van Haren F, M, Malbrain M, L (2020) [Intravenous Fluids: Do Not Drown in Confusion!](#) In J-C Vincent(Ed) *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine* 2020. Springer Brussels, 2020, 153-175
230. Williams A, Jani V, Nemkov T, Lucas A, Yoshida T, Dunham A, (2020) [Transfusion of anaerobically or conventionally stored Blood after hemorrhagic shock.](#) *Shock* 53(3), 352–62.
231. Xiao W, Mindrinos MN, Seok J, Cuschieri J, Cuenca A, Gao H et al. (2011) [A genomic storm in critically injured humans.](#) *J. Exp. Med* 208, 13, 2581–2590. doi/10.1084/jem.20111354

232. Ying Xin Xu, Alfred Ayala (1998): [Prolonged immunodepression after trauma and hemorrhagic shock](#); *J Trauma* 44, 2, 335-41.
233. Younkin DP, Wagerle LC, Chance B, Maria J, Delivoria-Papadopoulos M. (1987) [³¹P-NMR studies of cerebral metabolic changes during graded hypoxia in newborn lambs](#). *J Appl Physiol* 62,1569–1574.
234. Yua H, Kalogeris T, Korthuis R (2019) [Reactive species-induced microvascular dysfunction in ischemia/reperfusion](#). *Free Radical Biology and Medicine* 135, 182–197.
235. Zhang H, Voglis S, Kim C,H, Slutsky A,S (2003). [Effects of albumin and Ringer’s lactate on production of lung cytokines and hydrogen peroxide after resuscitated hemorrhage and endotoxemia in rats](#). *Crit Care Med* 31(5), 1515-1522.
236. Zhi Chen, Shan Hua (2020) [Transcription factor-mediated signaling pathways’ contribution to the pathology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome](#) *Am J Transl Res* 12(9), 5608-5618.
237. Zhong H, Song R, Pang Q, Liu Y, Zhuang J, Chen Y, et al (2018) [Propofol inhibits parthanatos via ROS–ER–calcium–mitochondria signal pathway in vivo and vitro](#). *Cell Death Dis.*9(10), 932. doi/ 10.1038/s41419-018-0996-9.

